

**Über die Flavone
in der Familie der Labiaten**

Roman Semrau

Über die Flavone in der Familie der Labiäten

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

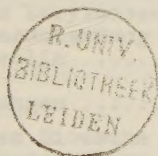
der

Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Ludwig-Maximilians-Universität

zu München



vorgelegt

von

Roman Semrau

aus

Dillingen/Donau

März 1958

Berichterstatter:

1. Prof. Dr. L. H ö r h a m m e r
2. Prof. Dr. E. B a m a n n

Tag der mündlichen Prüfung: 21. 5. 1958

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

Seite

I. Einleitung	1
II. Allgemeiner Teil	3
A. Bisherige Arbeiten über die Flavone in der Familie der Labiataen	3
B. Methodik der systematischen Untersuchungen ..	5
1. Papierchromatographische Voruntersuchung zur Identifizierung der Glykoside	5
2. Scutellarin-Isolierungen	5
α) Isolierung des Scutellarins aus Scutel- laria altissima als Testsubstanz	6
β) Neuisolierung des Scutellarins aus ei- nigen Scutellaria- und Galeopsisarten .	6
Identifizierung	7
3. Zur Analytik des Scutellarins	16
α) Über die Zuckerstellung der Glukuron- säure beim Scutellarin	16
β) Anwendung des Barytwassers als Sprüh- test zur Unterscheidung von Scutella- rein und Luteolin	18
4. Diosmin-Isolierungen	20
α) Isolierung des Diosmins aus Mentha Pu- legium als Testsubstanz	20
β) Neuisolierung von Diosmin-enthaltenden Mischkristallisaten aus Mentha-Arten ..	21
Identifizierung	22
5. Zusammenfassung der Glykosiduntersuchungen	25
6. Papierchromatographische Untersuchungen der Alkykone nach Hydrolyse der wässerigen Pflanzenauszüge	26
7. Diskussion der Aglykonuntersuchungen	31
8. Zusammenfassung der Ergebnisse	33

C. Diskussion der Ergebnisse	33
III. Experimenteller Teil	40
A. Allgemeine Arbeitsmethoden	40
1. Herkunft der Pflanzen	40
2. Aufarbeitung der Pflanzen	40
3. Papierchromatographie	41
4. Hydrolyse	44
5. Farbteste	46
6. Spektrophotometrische Messungen	47
B. Isolierungen	48
1. Isolierung des Scutellarins aus dem Kraut von <i>Scutellaria altissima</i> in der Modifizie- rung der Methode nach G. GOLDSCHMIEDT	48
2. Isolierung des Scutellarins aus dem Kraut von <i>Scutellaria canescens</i>	50
3. Isolierung des Scutellarins aus verschiede- nen Arten	51
4. Isolierung von Diosmin-enthaltenden Misch- kristallisaten aus einigen <i>Mentha</i> -Arten ...	51
5. Isolierung des Chrysins aus <i>Gemmae populi</i> .	52
Anhang	54

I. Einleitung

Während wir auf Grund unserer bei den Polygonaceen¹⁾ und Betulaceen²⁾ erhaltenen Untersuchungsergebnisse der Ansicht zuneigten, daß "in der feineren chemischen Ausbildung der weit verbreiteten Flavonglykoside typische Art-, Gattungs- und Familienmerkmale zum Ausdruck kommen"³⁾ und diese zu einer phytochemischen Einteilung und Unterscheidung dienen könnten, haben die letzten systematischen Untersuchungen bei den Umbelliferen⁴⁾ und Solanaceen⁵⁾ gezeigt, daß diese Annahme für sekundäre Pflanzenstoffe, wie sie die Flavone darstellen, doch nicht in dieser allgemeinen Form gelten dürfte. Diese Einschränkung geht aus folgender Gegenüberstellung hervor:

Nach den bisherigen Untersuchungen bildeten die Polygonaceen und Betulaceen nur Flavonole aus, während die Umbelliferen und Solanaceen Flavone wie Flavonole führten. Man könnte also die beiden ersten und die beiden letzten Familien gegeneinander, nicht aber untereinander abgrenzen.

Die Tatsache, daß L. HÖRHAMMER, H. WAGNER und F. GLOGGENGIESER⁶⁾ erst kürzlich aus *Polygonum orientale* L. zwei Vertreter des Flavontyps isolieren konnten, zeigt zugleich daß die papierchromatographischen Ergebnisse nicht in jedem Fall Anspruch auf Vollständigkeit haben können.

Abgesehen von dem rein statistischen Wert, den solche papierchromatographischen Untersuchungen besitzen, wird man daher weiter fragen müssen, welche Beziehung zwischen den einzelnen Flavonen und den anderen in einer Familie vorkommenden Stoffen bestehen, da sich unter Umständen hieraus eine bessere Möglichkeit eröffnet, phytochemische Fragen zu beantworten.

- 1) R. HÄNSEL u. L. HÖRHAMMER, Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. 287/59, 189 (1954).
- 2) R. HÄNSEL u. L. HÖRHAMMER, Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. 287/59, 117 (1954).
- 3) L. HÖRHAMMER u. R. HÄNSEL, Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. 288/60, 153 (1955).
- 4) L. HÖRHAMMER, H. WAGNER u. H. GÖTZ, Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. 291/63, 44 (1958).
- 5) E. MÜLLER, Dissertation, München 1957.
- 6) L. HÖRHAMMER, H. WAGNER u. F. GLOGGENGIESER, Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. (im Druck).

Sind es bei den Solanaceen die Alkaloide, bei den Umbelliferen die organischen Säuren und Cumarine, so gelten bei den Labiatischen die ätherischen Öle als Hauptinhaltsstoffe. Vom biogenetischen Gesichtspunkt aus wäre also künftig festzustellen, ob zwischen den Flavoninhaltsstoffen und den Terpenen dieser ätherischen Öle ein biogenetischer Zusammenhang besteht. Kann das Fehlen eines sonst weit verbreiteten Flavontyps etwa damit erklärt werden, daß eine Vorstufe für den Aufbau anderer Stoffe verbraucht wurde, oder geben die anderen Stoffe einen Hinweis auf den möglichen Syntheseweg der Flavone? Unter diesem neuen Gesichtspunkt sollten die Labiatischen untersucht werden.

Dabei war es für eine biogenetische Betrachtungsweise von besonderer Wichtigkeit zu prüfen, ob die bisherigen Angaben über die Flavoninhaltsstoffe der Familie, die sich fast nur auf histochemische Befunde stützen, richtig sind. Gerade die in letzter Zeit erhaltenen Isolierungsergebnisse bestätigten, daß die früheren histochemischen Befunde nicht kritiklos übernommen werden dürfen.

Unsere Aufgabe bestand darin, diese Befunde durch die Isolierung und durch die genauere chemische Identifizierung zu sichern. Die Papierchromatographie sollte bei Verwechslungsmöglichkeiten zur Unterscheidung mit herangezogen werden und zugleich helfen, unter Verwendung von Testsubstanzen weitere Flavone in der Familie der Labiatischen zu charakterisieren.

Nur solche Ergebnisse können Ausgangspunkt für eine biogenetische Betrachtung sein.

- 1) R. HANDEL u. E. HÖRMANN, Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. Pharmaz. Ges. 287/29, 189 (1954).
- 2) R. HANDEL u. E. HÖRMANN, Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. Pharmaz. Ges. 287/29, 117 (1954).
- 3) E. HÖRMANN u. R. HANDEL, Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. Pharmaz. Ges. 288/30, 155 (1955).
- 4) E. HÖRMANN, R. WAGNER u. H. GOTS, Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. Pharmaz. Ges. 287/29, 34 (1954).
- 5) E. MÜLLER, Dissertation, München 1957.
- 6) E. HÖRMANN, R. WAGNER u. F. GROSCHNEIDER, Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. Pharmaz. Ges. (im Druck).

II. Allgemeiner Teil

A. Bisherige Arbeiten über die Flavone in der Familie der Labiaten

Die bisherigen Ergebnisse der Flavonuntersuchungen in der Familie der Labiaten stützen sich im wesentlichen auf histochemische Nachweisreaktionen. Systematische Isolierungen fehlen.

Aus den Literaturangaben geht hervor, daß das Scutellarin, eine 5,6,7,4'-Tetrahydroxyflavon-7-glukuronsäure, und das Hesperidin, ein 5,7,3'-Trihydroxy-4'-methoxyflavanon-7-rhamnoglukosid, am häufigsten auftreten. Bei Scutellarin vermutete sogar H. MOLISCH⁷⁾, daß sein Vorkommen ein Labiatenmerkmal darstelle.

Im einzelnen gelang D. TAKAHASHI⁸⁾ im Jahre 1889 die Isolierung einer gelbkristallinen Substanz aus *Scutellaria baicalensis*, deren Konstitution erst durch K. SHIBATA und S. HATTORI⁹⁾ aufgeklärt werden konnte. Sie identifizierten das Flavon als ein 5,7-Dihydroxy-8-methoxyflavon und bezeichneten es als Wogonin. Aus der gleichen Wurzel gewannen später K. SHIBATA, S. IWATA und M. NAKAMURA¹⁰⁾ das Baicalin, dessen chemische Struktur sie mit 5,6,7-Trihydroxyflavon-7-glukuronsäure angaben.

Das Scutellarin selbst konnten G. GOLDSCHMIEDT und E. ZERNER¹¹⁾ aus *Scutellaria altissima* isolieren und konstitutionell aufklären, nachdem es bereits von H. MOLISCH⁷⁾ auf mikrochemischem Wege entdeckt worden war. Das gleiche Scutellarin wurde später noch aus *Scutellaria columnae*¹²⁾, *Scutellaria indica*¹³⁾, *Scutellaria scor-difolia*¹⁴⁾ und *Scutellaria galericulata*¹⁵⁾ dargestellt. Der histo-

7) H. MOLISCH, S.-B. Akad. Wiss. Wien Abt. I, 110 (1901).

8) D. TAKAHASHI, Mitt. med. Akad. Tokyo 1, 307 (1889).

9) K. SHIBATA u. S. HATTORI, Acta phytochim. Japan 5, 117 (1930).

10) K. SHIBATA, S. IWATA u. M. NAKAMURA, Bot. Mag. Tokyo 36, 18 (1922); Bot. Zbl. 2, 300 (1923).

11) G. GOLDSCHMIEDT u. E. ZERNER, Mh. Chem. 31, 439 (1910).

12) C. CHARAUX u. J. RABATÉ, J. Pharmac. Chim. 9, 401 (1940).

13) M. NAKAMURA, K. SHIBATA u. S. IWATA, Acta phytochim. Tokyo 1, 105 (1923).

14) T. MIWA, Acta phytochim. Tokyo 6, 154 (1932).

15) C. A. MARSH, Biochem. J. 59, 58 (1955).

chemische Nachweis in Galeopsis Tetrahit, Teucrium Chamaedrys und in Thymusarten durch H. MOLISCH und E. STRECKER¹⁶⁾ hingegen konnte bisher durch keine Isolierung bestätigt werden.

Über das Vorkommen von Hesperidin berichten übereinstimmend F. BORODIN¹⁷⁾, A. TSCHIRCH¹⁸⁾, E. HIMMELBAUR¹⁹⁾, O. TUNMANN²⁰⁾, H. MITLACHER²¹⁾ und H. BRUNSWIK²²⁾. Auch diese mikrochemischen Befunde wurden bis heute durch keine Isolierung präzisiert.

Aus drei Labiaten isolierten O. A. OESTERLE und G. WANDER²³⁾ eine Substanz, die sich nicht mit Hesperidin identisch erwies, sondern ein 5,7,3'-Trihydroxy-4'-methoxyflavon-7-rhamnoglukosid darstellte, welches sie Diosmin nannten.

In letzter Zeit berichtet C. A. MARSH²⁴⁾ über die Gewinnung von Chrysinglukuronid aus den Blättern der Scutellaria galericulata.

16) H. MOLISCH und E. STRECKER, S.-B. Akad. Wiss. Wien 118, 1379 (1909).

17) F. BORODIN, S.-B. Abh. naturforsch. Ges. Petersburg (1883).

18) A. TSCHIRCH u. O. A. OESTERLE, Anatomischer Atlas der Pharmakognosie u. Nahrungsmittelkunde, Leipzig 1900, Bd. I, S. 75.

19) E. HIMMELBAUR, Z. landw. Versuchswesen Österreich (1914).

20) O. TUNMANN, Z. allg. österr. Apothekervereins 20 (1906).

21) H. MITLACHER, Z. allg. österr. Apothekervereins 46 (1908).

22) H. BRUNSWIK, Z. allg. österr. Apothekervereins 36 (1920).

23) O. A. OESTERLE u. G. WANDER, Helv. chim. Acta 8, 519 (1925).

24) C. A. MARSH, Nature, London 176, 176 (1955).

B. Methodik der systematischen Untersuchungen

1. Papierchromatographische Voruntersuchungen zur Identifizierung der Glykoside

In Anlehnung an frühere Untersuchungsverfahren bemühten wir uns, zunächst papierchromatographisch einen Überblick über die Flavone einiger Labiaten zu gewinnen.

Wie sich aber schon nach Chromatographie von etwa 30 Pflanzenextrakten zeigte, traten im allgemeinen drei bis sechs Flavonglykoside auf, so daß eine sichere Zuordnung mit Hilfe der zur Verfügung stehenden Testsubstanzen nur in einigen Fällen zu erreichen war.

Die einzige Möglichkeit, ein statistisch brauchbares Ergebnis zu erhalten, bestand darin, einen Teil der Flavonglykoside, die in einfacher Weise nicht charakterisierbar waren, zu isolieren. Zur Identifizierung der übrigen Glykoside sollte die von L. HÖRHAMMER, H. WAGNER und H. GÖTZ²⁵⁾ angewandte Hydrolysenmethode und die papierchromatographischen Nachweise der Aglykone Verwendung finden. Dort, wo auf Grund der R_f -Werte auch jetzt noch keine sichere Zuordnung zu Aglykon-Testsubstanzen und eine Isolierung im Rahmen unserer Untersuchungen nicht möglich war, wurden Streifenchromatogramme angefertigt und versucht, durch Entwicklung neuer Sprühteste die unbekannten Flavone in ihrer Struktur zu charakterisieren.

2. Scutellarin-Isolierungen

Wie aus einer eingangs gegebenen Zusammenstellung über die bisher in den Labiaten gefundenen Flavone hervorgeht, sollten Scutellarin und Hesperidin die am meist verbreiteten Flavonglykoside der Familie sein. Um diese Befunde zu überprüfen, versuchten wir die Flavone aus einer größeren Zahl verschiedener Arten zu isolieren.

25) L. HÖRHAMMER, H. WAGNER u. H. GÖTZ, Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. 291/63, 44 (1958).

α) Isolierung des Scutellarins aus Scutellaria altissima als Testsubstanz

Zur Gewinnung der Testsubstanz Scutellarin hielten wir uns zunächst an die Methode von G. GOLDSCHMIEDT²⁶⁾, die wir folgendermaßen modifizierten:

Wir behandelten die Droge nicht, wie angegeben, mit kochendem Wasser, sondern extrahierten im Soxhlet-Apparat erst mit Methanol, bereiteten dann nach Abdestillieren des Alkohols mit viel kochendem Wasser einen wässerigen Extrakt und versetzten diesen nach dem Eindampfen auf das halbe Volumen, wie bei Goldschmiedt mit Salzsäure, wobei nach einigen Wochen eine größere Ausbeute an Substanz ausfiel. Um eine schnellere Gewinnung des Scutellarins zu ermöglichen, versuchten wir es durch Ausschütteln mit Äther, Äther-Methanol bzw. Äther-Äthanol (4+1) und Äthylazetat in der organischen Phase zu konzentrieren. Die von diesen Fraktionen angefertigten Chromatogramme ließen nur wenig Flavonsubstanz erkennen.

Nach etwa einer Stunde beobachteten wir beim wässerigen Rückstand der Äthylazetat-Ausschüttelung - später auch bei den anderen wässerigen Rückständen - eine gelbweiße Fällung, welche die Hauptmenge des Glykosids enthielt. Durch mehrmalige Umkristallisation reinigten wir das Glykosid aus 70%igem Äthanol.

Aus 44 g Droge erhielten wir 0,3 g reine Substanz, die im Schmelzpunkt des Glykosides und des Aglykons, im Schmelzpunkt seines Azetates und des Glukuronsäure-phenylosazons, sowie in der UV- und IR-spektrophotometrischen Messungen mit dem Scutellarin von G. Goldschmiedt übereinstimmte. Somit stand authentisches Scutellarin als Testsubstanz zur Verfügung.

β) Neuisolierung des Scutellarins aus einigen Scutellaria- und Galeopsis-Arten

Der papierchromatographische Vergleich der Testsubstanz Scutellarin mit den methanolischen Extrakten aus anderen Scutellaria- und Galeopsis-Arten zeigte, daß bei Scutellaria alpina,

26) G. GOLDSCHMIEDT, S.-B. Akad. Wiss. Wien 110 (1901).

Scutellaria canascens, *Scutellaria Orientalis*, *Galeopsis Tetrahit* und *Galeopsis ochroleuca*, die bisher noch nicht untersucht wurden, immer ein Flavonglykosid auftrat, das in seinem R_f -Wert und in seinem Verhalten gegenüber den Sprühreagenzien Aluminiumsulfat- und basischer Bleiazetatlösung mit Scutellarin Übereinstimmung zeigte.

Das auf diesem Wege festgelegte Scutellarin versuchten wir nach der von uns modifizierten Methode von G. GOLDSCHMIEDT²⁷⁾ aus allen oben genannten Arten zu isolieren.

Die hierbei anfallenden gelbweißen bis gelbbraunen Rohprodukte wurden zur Reinigung öfters im Soxhlet-Apparat mit Äthanol extrahiert und durch mehrmalige Umkristallisation weiter gereinigt. Nur der schmutzige Rückstand aus *Scutellaria canascens* mußte in der Hülse im Soxhlet-Apparat öfters extrahiert werden.

Die Substanzausbeuten betrugen bei *Scutellaria canascens* 0,1 % bei *Scutellaria alpinia* 0,05 % und bei den übrigen Arten unter 0,05 %.

Identifizierung

a) Papierchromatographie:

Die R_f -Werte der Extraktchromatogramme lagen durchweg etwas zu tief, während die R_f -Werte der Testsubstanz und der neu isolierten Substanzen im Isopropanol-Ameisensäure-Wasser-Gemisch $(2+5+5) = 0,36$ und im Äthylazetat-Ameisensäure-Wasser-Gemisch $(10+2+3) = 0,43$ übereinstimmten.

Die unter dem UV-Licht dunkel erscheinenden Chromatogrammflecke leuchteten nach Besprühen mit Barytwasser (s. S. 18) giftgrün und mit basischer Bleiazetatlösung grünlich; bei Aluminiumsulfatlösung blieben die Flecke dunkel.

b) Farbreaktionen:

Die bei E. ZERNER²⁸⁾ angegebenen qualitativen Nachweise für Scutellarin führten wir mit der Testsubstanz durch und verglichen die Reaktionen mit denen der neuen Substanzen:

27) G. GOLDSCHMIEDT, S.-B. Akad. Wiss. Wien 110 (1901).

28) E. ZERNER, Mh. Chem. 31, 476 (1910).

Aus seiner alkalischen oder ammoniakalischen Lösung wurde durch Zusatz von Säure Scutellarin wieder ausgefällt.

Alkoholische Kali- oder Natronlauge, Barytwasser oder Alkaliazetate erzeugten in seiner alkoholischen Lösung Niederschläge, die an der Luft oder auf Zugabe von Wasserstoffsuperoxyd spinatgrüne Färbungen ergaben.

c) Schmelzpunkt:

Die auf dem Kofler-Heizblock ausgeführten Schmelzpunkte lagen alle über 300° C.

Bei G. GOLDSCHMIEDT²⁹⁾ und C. A. MARSH³⁰⁾ findet man die Schmelzpunktangabe: "Zerfließt oder schmilzt nicht unter 300° C". Damit bringen die Autoren zum Ausdruck, daß ein Schmelzpunkt über 300° C nicht mehr exakt feststellbar ist. Unseren Schmelz- und Mischschmelzpunktbestimmungen kommt demnach nur orientierende Bedeutung zu (s. Tab. 1, S. 15).

d) Darstellung des Glykosid-Azetats:

Im allgemeinen werden Azetylierungen nur mit den Aglykonen durchgeführt. Wie sich später herausstellte, kristallisiert beim Scutellarein das Azetat nicht aus. K. SHIBATA und Mitarbeiter³¹⁾ erwähnen nur die Glykosidazetylierung, die bei ihnen planmäßig verlief. Die Anfertigung unserer Glykosidazetate zeigte auch keinerlei Schwierigkeiten, so daß wir uns nur auf die Durchführung dieser Azetate beschränkten (Schmelzpunkte s. Tab. 1, S. 15).

e) UV-Spektren:

Die UV-Spektren aller Flavone zeigen die typischen Maxima zwischen 250-270 mμ und 340-370 mμ. Die kurzwellige Bande des Scutellarins ist demgegenüber etwas nach bathochrom (bei 285 mμ) und die langwellige leicht hypsochrom (bei 335 mμ) verschoben. Alle Substanzen zeigten dieselben Maxima wie die Testsubstanz Scutellarin (s. Tab. 2, S. 15). Eine weitere Diskussion folgt im Zusammenhang mit den Aglykonspektren auf Seite 12.

29) G. GOLDSCHMIEDT, S.-B. Akad. Wiss. Wien 110 (1901)

30) C. A. MARSH, Biochem. J. 59, 58 (1955).

31) K. SHIBATA, S. IWATA u. M. NAKAMURA, Acta phytochim. Tokyo 1, 105 (1923).

f) Hydrolyse:

Die Geschwindigkeit der Hydrolyse eines Flavonglykosides hängt allgemein davon ab, an welchem C-Atom des Genins der Zuckerrest verestert ist. Flavon-3-glykoside hydrolysieren gewöhnlich in einer Säurekonzentration von 2-5 % etwa in 1-2 Stunden, während C₇-Glykoside hohe Konzentrationen benötigen und mitunter bis zu 10-15 Stunden auf dem Wasserbad erhitzt werden müssen.

Die mit 30-40%iger Schwefelsäure durchgeführte Hydrolyse nach G. GOLDSCHMIEDT³²⁾ wies im Chromatogramm neben dem Aglykon noch teilweise das ungespaltene Glykosid auf. Ähnliche Ergebnisse beobachteten wir bei der Kalthydrolyse mit konzentrierter Schwefelsäure. Bei Verwendung von 35%iger Schwefelsäure oder 25%iger Salzsäure unter jeweiliger Zugabe einiger Tropfen Essigsäure wies das Papierchromatogramm ein reines Aglykon auf. Eine geringe Ausbeute an Aglykon erhielten wir bei der Hydrolyse nach L. ZIMMERMANN³³⁾, doch enthielt das Hydrolysat kein Glykosid mehr. Die weitest aus besten Resultate hatte die Hydrolyse nach C. CHARAUX und J. RABATE³⁴⁾, die auch C. A. MARSH³⁵⁾ bestätigt. Hierzu wird eine Mischung aus gleichen Teilen 10%iger Schwefelsäure und unverdünnter Essigsäure angewandt.

Auch später stellten wir bei Diosmin die gleichen Versuche an (s. S. 21 u. 25), wobei sich die Vorschrift nach C. CHARAUX und J. RABATE³⁴⁾ als die beste erwies.

Hieraus wird deutlich, daß Flavon- bzw. Flavanonglykoside mit einer Verglykosidierung am C₇ wie beim Scutellarin, Diosmin, Hesperidin und Apiin in wässrigen Mineralsäuren nur dann gut hydrolysieren, wenn dem Gemisch eine organische Säure (z.B. Essigsäure) beigegeben wird, die zugleich lösungsvermittelnd wirkt. Wenn man sich vergegenwärtigt, daß die Lösung der Glykosidbildung letztlich davon abhängt, ob und in welchem Maße eine Protonenwanderung an den Brücken-Sauerstoff der Aldose oder Furanose stattfindet, damit gleichzeitig unter Ringöffnung und Bildung eines energiereichen Hydroniumions (siehe Reaktionsschema, S. 10) eine Lockerung der C-O-C-Bindung erfolgen kann³⁶⁾, wird man in den oben angewandten Säuremischungen für die Hydrolyse vom Standpunkt des oben dargelegten Reaktionsschemas einen Vorteil sehen dürfen.

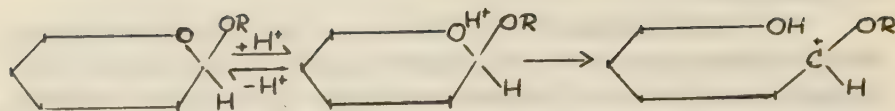
32) G. GOLDSCHMIEDT, S.-B. Akad. Wiss. Wien 110 (1901).

33) L. ZIMMERMANN, J. chem. Soc. (London) 632 (1956).

34) C. CHARAUX u. J. RABATE, J. Pharmac. Chim. 2, 401 (1940).

35) C. A. MARSH, Biochem. J. 59, 58 (1955).

36) F. SHAFIZADEK u. A. THOMPSON, J.org.Chemistry 21, 10, 1059 (1956)



Reaktionsschema
einer Glykosidhydrolyse

Auch das von E. KILIANI³⁷⁾ für die Hydrolyse von Herzglykosiden verwendete Säuregemisch enthielt Essigsäure. Andere Säuren, wie Milchsäure, Oxalsäure, Zitronensäure und Weinsteinsäure eigneten sich nach unseren Erfahrungen nicht so gut wie Essigsäure.

g) Identifizierung der Aglykone:

Die Schmelzpunkte der Aglykone lagen ebenfalls über 300° C. Sie sind in Tabelle 1 auf Seite 15 zusammengefaßt.

Wir azetylierten, wie beim Glykosidazetat beschrieben, die einzelnen Aglykone mit entwässertem Natriumazetat und Essigsäureanhydrid. Die Kristallbildung dieser Azetate blieb jedoch aus. Die Wiederholung der Versuche, auch nach Variation der Versuchsbedingungen, war ebenso erfolglos. Im allgemeinen ergeben die Flavonaglykone gute Azetate, Kristallisate und genaue Schmelzpunkte, während die Schmelzpunkte der Flavonglykosidazetate auf Grund der mitazetylierten alkoholischen Gruppen am Zuckerrest meistens variieren. K. SHIBATA und Mitarbeiter³⁸⁾ geben bei ihren Identitätsprüfungen nur die Azetylierung vom Glukuronid an. Es ist anzunehmen, daß sie auf ähnliche Schwierigkeiten gestoßen sind. Der Grund hierfür ist sehr wahrscheinlich in der vicinalen Stellung der drei OH-Gruppen im Ring A, die offenbar eine sterische Hinderung darstellt, zu suchen.

h) Nachweis der Glukuronsäure:

Zur Prüfung des Zuckeranteils stellten wir die TOLLENS'sche Naphthoresorcinprobe³⁹⁾⁴⁰⁾ an. Der wässrige saure Rückstand der

37) E. KILIANI, Ber. dtsh. chem. Ges. 63, 2866.

38) K. SHIBATA, S. IWATA u. M. NAKAMURA, Acta phytochim. Tokyo 1, 105 (1923).

39) A. NEUBERG u. Y. SANEYOSHI, Biochem. Z. 36, 56 (1911).

40) Y. ASAHINA, J. pharmac. Soc. Japan 484, (1919).

Hydrolyse zeigte im Vergleich mit reiner Glukuronsäure Übereinstimmung in den Färbungen. Beim Kochen mit etwas Naphthoresorcin oder naphthoresorcincarbonsaurem Barium, Salzsäure und Äthanol bildete sich ein leichter Niederschlag, der sich in Alkohol blau färbte und mit Benzol ausgeschüttelt sich mit rotvioletter Farbe löste. Gleiche Färbungen gab auch das reine Glykosid.

Zum weiteren Nachweis des Hydrolysates wurde alkoholische α -Naphthollösung⁴¹⁾ zugegeben und nach dem Umschütteln mit konzentrierter Schwefelsäure unterschichtet. An der Berührungsfläche beider Flüssigkeiten entstand ein braunroter unten blaugrüner Ring. Beim Durchschütteln wurde die ganze Flüssigkeit smaragdgrün gefärbt.

Darstellung des Osazons:

Auch die Darstellung des Glukuronsäurephenylosazons⁴²⁾ aus dem sauren Hydrolysenrückstand war mit dem Osazon der reinen Glukuronsäure in ihren Schmelz- und Mischschmelzpunkten identisch (Schmelzpunkt = $191-194^{\circ}$ C, s. Tab. 1, S. 15).

i) Infrarot-Spektren^{*)}:

In einer kürzlich erschienenen Arbeit untersuchten L. HÖRHAMMER, H. WAGNER und F. GLOGGENGIEßER⁴³⁾ das infrarotspektrophotometrische Verhalten von insgesamt etwa 60 Flavonen bzw. Flavonolen und ihren Glykosiden. Nach diesen Untersuchungen war es möglich, auf Grund der Banden im Bereich von $1620-1660\text{ cm}^{-1}$, aus den Banden zwischen 750 und 850 cm^{-1} und den für die OH-Deformationsschwingungen der Zucker typischen Banden zwischen 1000 und 1100 cm^{-1} Schlüsse auf die Konfiguration der einzelnen Flavonglykoside zu ziehen.

Die von uns isolierten Substanzen aus den Scutellaria-Arten zeigten im Infrarotspektrum in den einzelnen Hauptbanden und im sonstigen Absorptionsverlauf gute Übereinstimmung. Die für eine

41) G. GOLDSCHMIEDT u. E. ZERNER, *Mh. Chem.* **31**, 485 (1910).

42) G. GOLDSCHMIEDT, *Mh. Chem.* **31**, 477 (1910).

43) L. HÖRHAMMER, H. WAGNER u. F. GLOGGENGIEßER, *Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges.* (im Druck).

*) Herrn Dr. W. Steidle, Mitarbeiter der Firma Dr. K. Thomae, Biberach, danken wir für die Anfertigung dieser IR-Spektren.

Monosubstitution im Seitenphenyl von Flavonen typische Bande bei 833 cm^{-1} findet sich übereinstimmend in ausgeprägter Form bei allen Substanzen.

Apigenin und Apin weisen in diesem Bereich dieselbe Bande auf.

Die Carbonylbande hat ihre Position bei 1655 cm^{-1} , was allen Flavonen mit $\text{C}_5\text{-OH}$ -Gruppierung eigen ist. Äußerst typisch für Scutellarin ist die Carboxylbande der Glukuronsäure bei 1725 cm^{-1} , die beim Scutellarein naturgemäß fehlt.

Die für die OH-Gruppen des Zuckers gefundenen Banden bei 3300 cm^{-1} und zwischen 1000 und 1100 cm^{-1} entsprechen in der Intensität und der Lage denen der anderen Glykoside.

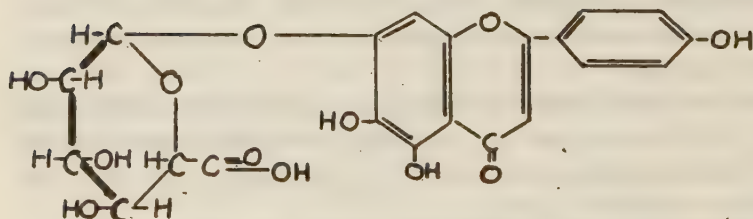
Die IR-Spektren des Scutellarins aus *Scutellaria alpina* und *Scutellaria canescens* sind auf den Seiten 13 und 14 dargestellt.

k) UV-Spektren:

Eine Gegenüberstellung der Maxima von Glykosid und Aglykon aus allen Isolierungen zeigte gleiche Werte. Die Übereinstimmung der Maxima beschreibt auch B. SKARZYNSKI⁴⁴⁾ am Beispiel des C_7 -Flavonglykosids Apin und dessen Aglykon Apigenin. Das spektrale Verhalten übt dabei keinen Einfluß auf die Verglykosidierung am C_7 der Flavone aus (s. Tab. 2, S. 15).

Somit dürfte Scutellarin folgende Konfiguration besitzen:

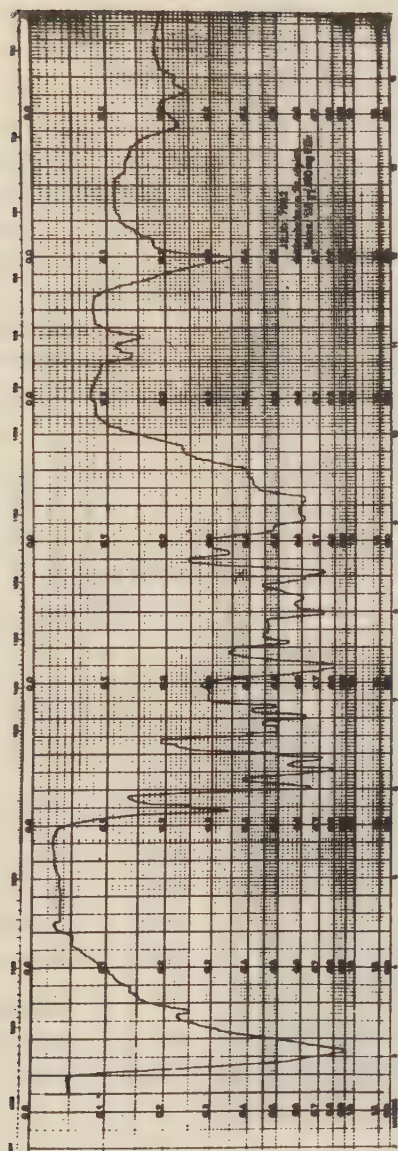
Formel 1



Scutellarin

(Es ist noch nicht erwiesen, ob die Glukuronsäure in α - oder β -glykosidischer Bindung vorliegt)

44) B. SKARZYNSKI, Biochem. Z. 301, 150 (1939):

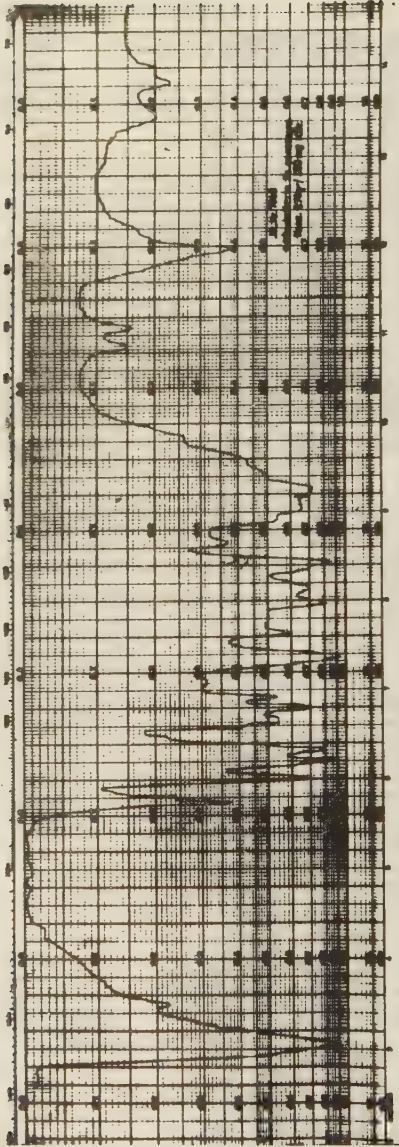


I R - S p e k t r u m
von Scutellarin aus *Scutellaria alpina*
Konz.: 740 μ /300mg KBr

% Durchlässigkeit

$\longleftrightarrow \tilde{\nu} \text{ (cm}^{-1}\text{)}$

$\tilde{\nu}$ (cm⁻¹)



% Durchlässigkeit

I R - S p e k t r u m

von Scutellarin aus Scutellaria canescens
Konz. 870γ/300 mg KBr

T a b e l l e 1

Arten	Schmelzpunkte (korr.)			
	Glykosid	Glykosid-azetat	Aglykon	Glukuronsäureosazon
Scutellaria alpina	306° C	252-254° C	304° C	193-194° C
Scutell.canascens	308° C	253-254° C	304° C	191-192° C
Scutell.Orientalis	302° C			
Scutellopsis Tetrahit	292-300° C			
<u>zum Vergleich:</u>				
Scutell.altissima	306° C	254° C	302° C	193-194° C

T a b e l l e 2

Arten	UV-Spektren			
	Glykosid		Aglykon	
	Max _{mμ} I	Max _{mμ} II	Max _{mμ} I	Max _{mμ} II
Scutellaria alpina	285	333	287	336
Scutell.canascens	285	335	287	336
Scutell.Orientalis	286	336		
Scutellopsis Tetrahit	286	333		
<u>zum Vergleich:</u>				
Scutell.altissima	285	335	285	337

3. Zur Analytik des Scutellarins bzw. Scutellareins

a) Über die Zuckerstellung der Glukuronsäure beim Scutellarin

In der Literatur wird übereinstimmend für Scutellarin eine Zuckersubstitution am C₇ beschrieben, ohne daß diese durch Synthese oder Darstellung der Methyläther nachgewiesen worden wäre. Sämtliche Angaben beziehen sich in der Regel nur auf Farbreaktionen.

Neuerdings konnten T. A. GEISSMAN und U. KRANEN-FIEDLER⁴⁵⁾ auf Grund von Spektrenverschiebungen im alkalischen Milieu und nach Zusatz von Komplexbildnern zwischen einer Substitution am C₄, - und C₇- bei Flavonen unterscheiden. Weiteren Anhaltspunkt gibt nach B. SKARZYNSKI⁴⁶⁾ der Vergleich des Glykosid- und Aglykonspektrums, da er feststellte, daß eine Substitution am C₇ die Banden des Aglykons nur geringfügig, eine Substitution am C₄, bzw. am C₃ hingegen wesentlich stärker verschiebt.

Wir haben diese spektralen Möglichkeiten bei Scutellarin zur eindeutigen Klärung der Substitution ausgenutzt und die Ergebnisse mit Messungen an anderen Flavonen ähnlicher Hydroxylsubstitution verglichen.

T a b e l l e 3

Substanz	abs.Äthanol		abs.Äthanol + Natriumazetat		Verschiebung*) der Maxima	
	Max m μ I	Max m μ II	Max m μ I	Max m μ II	Max m μ I	Max m μ II
Scutellarin	286	336	295	330	+ 9	- 6
Scutellarein	286	337	270	361	-16	+24
Apigenin-7-glucosid	265	335	265	345	0	+10
Apigenin-4'-glucosid	271	333	278	363	+ 7	+30

45) T. A. GEISSMAN u. U. KRANEN-FIEDLER, Naturwissenschaften 43, 226 (1956).

46) B. SKARZYNSKI, Biochem. Z. 301, 150 (1939).

*) Zeichenerklärung: - = hypsochrome Verschiebung
+ = bathochrome Verschiebung

Die Gegenüberstellung (s. Tab. 3, S. 16) läßt erkennen, daß die für eine C₇-Substitution geforderte Spektrengleichheit zwischen Glykosid und Aglykon zutrifft. Da eine Spektrenverschiebung bei Flavonen im Natriumazetat-Milieu nur bei freier C₇-Hydroxylgruppe deutlich wird, was auf das leichter ionisierbare C₇-Hydroxyl zurückzuführen ist, verglichen wir das Scutellarin und das Scutellarein mit einem Apigenin-7-*) und einem Apigenin-4'-glukosid⁴⁷⁾, die sich vom Scutellarin nur durch das fehlende C₆-Hydroxyl unterscheiden. Hierbei stimmte das Scutellarin größenordnungsmäßig noch am ehesten mit dem Apigenin-7-glukosid überein, was für das Max_{II} des Apigenin-4'-glukosids nicht zutrifft. Die geringe hypsochrome Verschiebung des Max_{II} beim Scutellarin ist mit Sicherheit auf die Carboxylgruppe der Glukuronsäure zurückzuführen, was auch mit den Untersuchungsergebnissen von L. JURD⁴⁸⁾ in Einklang stehen würde, der beobachtete, daß die Carboxylgruppe aromatischer Säuren bei Gegenwart von Natriumazetat das Maximum in den kurzwelligen Bereich verschiebt. L. JURD⁴⁸⁾ erklärt dies damit, daß bei einer Ionisierung der Carboxylgruppe, die Bestandteil eines konjugierten Systems ist, die Teilnahme an einem Resonanzsystem entfällt, wodurch eine Erniedrigung der Wellenlänge zu verzeichnen ist.

Die zusätzlich von uns durchgeführten Messungen mit Aluminiumchloridzusatz lassen weiterhin erkennen, daß eine Substitution am C₇ stattgefunden haben muß, da auch hier die Verschiebung größenordnungsmäßig mit Apigenin-7-glucosid übereinstimmt. Die Zugabe von Natriumazetat zur Komplexlösung führt bei Scutellarein das Max_{II} nur um 12 mμ in den langwelligen Bereich, während das Scutellarin um 67 Einheiten bathochrom verschoben wird. Dieser letzte Vergleich läßt daher nur den Schluß zu, daß auch hier das Natriumazetat an der Ionisierung der Carboxylgruppe beteiligt ist (s. Tab. 4, S. 18).

47) L. HÖRHAMMER, H. WAGNER u. F. GLOGGENGIEßER, Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. (im Druck).

48) L. JURD, Arch. Biochem. Biophysics 66, 284 (1957).

*) W. KIRMAYER isolierte diese Substanz aus Matricaria chamomilla an unserem Institut.

T a b e l l e 4

Substanz	abs.Äthanol		abs.Äthanol + AlCl_3		Verschiebung d.Maxima	
	Max _{mp I}	Max _{mp II}	Max _{mp I}	Max _{mp II}	Max _{mp I}	Max _{mp II}
Scutellarin	286	336	303	363	+17	+27
Scutellarein	286	337	298	370	+12	+33
Substanz	abs.Äthanol		abs.Äthanol + AlCl_3 + Na-az.		Verschiebung d.Maxima	
	Max _I	Max _{II}	Max _I	Max _{II}	Max _I	Max _{II}
Scutellarin	286	336	305	403	+19	+67
Scutellarein	286	337	272	349	-14	+12

Das Ergebnis der Spektrenvergleiche bestätigt die früheren Angaben. Scutellarin besitzt eine Zuckersubstitution am C_7 , was indirekt auch durch die schwere Hydrolysierbarkeit (s. S. 9) bewiesen wurde.

β) Anwendung des Barytwassers als Sprühtest zur Unterscheidung von Scutellarein und Luteolin

H. MOLISCH⁴⁹⁾ benützte zum histochemischen Nachweis von Scutellarin in Labiäten vornehmlich das Barytwasser. Auf diese Weise glaubte er das Scutellarin in *Scutellaria altissima*, *Galeopsis Tetrahit*, *Teucrium Chamaedrys* und in Thymusarten sicher gefunden zu haben.

Bei einer Überprüfung dieser Ergebnisse auf papierchromatographischem Wege beobachteten wir aber, daß in sämtlichen Extrakten von *Teucrium Chamaedrys*, *Teucrium Scorodonia* und von einigen Thymusarten ein Glykosid nachweisbar war, das einen wesentlich tieferen R_f -Wert zeigte als authentisches Scutellarin. Der Versuch, dieses Flavonglykosid anderen Testsubstanzen zuzuordnen, brachte

49) H. MOLISCH, S.-B. Akad. Wiss. Wien 1, 110 (1901).

keinen weiteren Hinweis. Erst nach Hydrolyse dieser Extrakte schien eine Zuordnung möglich zu sein. Die R_f -Werte der Aglykone zeigten Übereinstimmung mit denen des authentischen Scutellareins, auch im Durchlaufchromatogramm, so daß wir annehmen mußten, in den Glykosiden liege das Scutellarein mit einem anderen Zucker als Glukuronsäure vor. Die Anwendung des Baryt-Testes führte allerdings zu einem völlig anderen Ergebnis. Während sich das authentische Scutallerein grün färbte, war die Komplexfärbung des Aglykons gelb. Ein Vergleich mit anderen Aglykonen zeigte nun andererseits, daß Luteolin dieselbe Laufhöhe wie Scutellarein besitzt und mit Barytwasser gleichfalls einen gelben Farbkomplex ausbildet wie in unseren Extraktchromatogrammen. Damit war auch der bei der Glykosidchromatographie beobachtete R_f -Unterschied gegenüber Scutellarin geklärt. Bei dem in den Teucrium- und Thymusarten vorkommenden Glykosid handelt es sich daher nicht um Scutallerin, sondern um ein Luteolinglykosid. Bemerkenswert ist, daß nach Isolierung des Scutellarins aus Galeopsis Tetrahit im verbleibenden Extrakt nach Hydrolyse noch Luteolin nachgewiesen wurde.

Wir haben den Molisch-Test etwas modifiziert und auf Festsubstanz angewandt. Dabei erhielten wir folgendes Ergebnis: Beim Betupfen von Scutellarin- (Scutellarein-) und Luteolin-Kristallen mit Barytwasser beobachteten wir bei beiden Flavonen die gleichen Farbreaktionen. Die Farben wechselten chamäleonartig von hellgelb über goldgelb, orange, rot nach grün. Ein weiteres Flavon mit orthoständiger OH-Gruppierung, wie Quercetin, verhielt sich ebenso. Die Grünfärbung war bei Luteolin und bei Quercetin etwas undeutlich, bei Luteolin wurde sie schneller uncharakteristisch dunkel als bei Quercetin. Andere Flavone mit fehlender orthoständiger OH-Stellung ließen mit Barytwasser nur eine gelbe Komplexfarbe erkennen (s. Tab. 7 , S. 55).

Der Baryt-Test eignet sich somit nach dem von uns durchgeführten Verfahren nicht nur zum Nachweis des Scutellarins, sondern gleichzeitig auch zur Unterscheidung der Aglykone Scutellarein und Luteolin.

4. Diosmin-Isolierungen

Nun wendeten wir uns dem Hesperidin zu, das laut Literaturangaben in der Familie der Labiata ebenfalls weit verbreitet vorkommen soll.

Zu diesem Zweck hydrolysierten wir die Extraktzubereitungen der beschriebenen Pflanzen und verglichen die erhaltenen Aglykone papierchromatographisch mit authentischem Hesperetin. Dabei konnte nirgends Hesperetin als Aglykon festgestellt werden, auch nicht nach Variation der Extrahierung und Änderung der Konzentration. Somit durften die Angaben der Autoren F. BORODIN⁵⁰⁾, A. TSCHIRCH⁵¹⁾, E. HIMMELBAUR⁵²⁾, O. TUNMANN⁵³⁾, H. MITLACHER⁵⁴⁾ und H. BRUNSWIK⁵⁵⁾, die ja im wesentlichen nur auf histochemischen Untersuchungen beruhten, unrichtig sein.

Nachdem nun O. A. OESTERLE und G. WANDER⁵⁶⁾ aus *Mentha crispa*, *Mentha Pulegium* und *Hyssopus officinalis* nicht das Flavanon-rhamnoglukosid Hesperidin, sondern das Flavon-rhamnoglukosid Diosmin isoliert und eindeutig identifiziert hatten, benutzten wir diesen Hinweis und prüften sämtliche Pflanzenextrakte auf Diosmin und nach Hydrolyse auf dessen Aglykon Diosmetin. Da wir keine Vergleichssubstanz zur Verfügung hatten, war Diosmin zuvor aus *Mentha Pulegium* zu isolieren.

a) Isolierung des Diosmins aus *Mentha Pulegium* als Testsubstanz

Wir hielten uns hierbei an die Vorschrift von O. A. OESTERLE und G. WANDER⁵⁶⁾, die eine oftmalige Extraktion der Droge mit 2%iger Natronlauge vorsieht. Zur Fällung des Diosmins versetzten wir die vereinigten alkalischen Auszüge mit verdünnter Salzsäure. Der gallertartige, dunkel gefärbte Niederschlag wurde mit Wasser gewaschen und wiederum mit 2%iger Natronlauge gelöst. Wir fällten unter Umrühren durch vorsichtige Zugabe von verdünnter Salzsäure wiederholt das Glykosid aus und setzten diese Manipulation so lange fort, bis der Rückstand helleres Aussehen zeigte. Dieser

50) F. BORODIN, S.-B. Abh. naturforsch. Ges. Petersburg (1883).

51) A. TSCHIRCH u. O. A. OESTERLE, Anatomischer Atlas der Pharmakognosie u. Nahrungsmittelkunde, Leipzig 1900, Bd. I, S. 75.

52) E. HIMMELBAUR, Z. landw. Versuchswesen Österreich (1914).

53) O. TUNMANN, Z. allg. österr. Apothekervereins 20 (1906).

54) H. MITLACHER, Z. allg. österr. Apothekervereins 46 (1908).

55) H. BRUNSWIK, Z. allg. österr. Apothekervereins 36 (1920).

56) O. A. OESTERLE u. G. WANDER, Helv. chim. Acta 8, 519 (1925).

wurde mit Äther gewaschen, am Rückfluß mit viel Methanol gekocht und der daraus erhaltene weiße Niederschlag oftmals aus 70%igem Äthanol umkristallisiert. Die Ausbeute des nadelförmigen Kristallisates betrug etwa 0,4 %.

Die Identifizierung der Substanz wurde in gleicher Weise wie beim Scutellarin durch Schmelzpunkt (Glykosid = 275-278° C), Papierchromatographie, Absorptionsspektren (Maxima des Glykosids 285 mμ und 329 mμ, Maxima des Aglykons 289 mμ und 329 mμ) und durch Untersuchung der hydrolytischen Spaltprodukte vorgenommen (Schmelzpunkt des Aglykons = 251-253° C).

Die Substanz war mit dem von O. A. OESTERLE und G. WANDER⁵⁷⁾ isolierten Diosmin identisch und konnte somit als Testsubstanz Verwendung finden.

β) Neuisolierung von Diosmin-enthaltenden Mischkristallisaten aus einigen Mentha-Arten

Nach obiger Isolierungsmethode erhielten wir aus weiteren Mentha-Arten, wie Mentha longifolia, Mentha piperita und Mentha rotundifolia, jeweils ein Flavonoid, das auf Grund seines Schmelzpunktes ebenso gut dem Hesperidin (251° C) wie auch dem Diosmin (276-278° C) entsprechen konnte. Mentha longifolia schmolz bei 238-244° C, Mentha piperita bei 248-250° C und Mentha rotundifolia bei 234° C.

E. HIMMELBAUR⁵⁸⁾ trat gerade bei Mentha piperita für die Identität mit Hesperidin ein. Daher bemühten wir uns, dieses Flavonglykosid in reinerer Form nach einer anderen Methode zu gewinnen. Hier bewährte sich besonders die von uns bei der Isolierung von Scutellarin modifizierte Methode nach G. GOLDSCHMIEDT⁵⁹⁾, wonach der aus dem methanolischen Pflanzenextrakt bereitete wässrige Extrakt mit Salzsäure versetzt und anschließend mit Äthylazetat durchgeschüttelt wird. Aus den bereits beschriebenen Arten erhielten wir weißgelbe Substanzen, die nach oftmaligem Umkristallisieren aus 70%igem Äthanol ähnliche Schmelzpunkte ergaben.

57) O. A. OESTERLE u. G. WANDER, Helv. chim. Acta 8, 519 (1925).

58) E. HIMMELBAUR, Z. landw. Versuchswesen Österreich (1914).

59) G. GOLDSCHMIEDT, S.-B. Akad. Wiss. Wien, Abt. I, 110 (1901).

Die Ausbeute betrug bei *Mentha longifolia* 0,2 %, bei *Mentha piperita* 0,5 % und bei *Mentha rotundifolia* 0,15 %.

Identifizierung

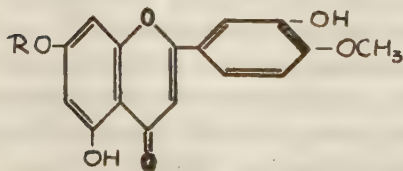
a) Papierchromatographie:

Der papierchromatographische Vergleich der isolierten Kristallisate mit den Testsubstanzen Diosmin und Hesperidin zeigte unter dem UV-Licht, daß diese Flavonglykoside in sauren Lösungsmitteln überhaupt nicht wanderten. Die Substanzen blieben am Startpunkt haften. Diese Befunde stehen in Widerspruch zu den Angaben von E. C. BATE-SMITH⁶⁰⁾, der mehrere Flavonoide papierchromatographisch überprüfte. Bei Diosmin stellte er im Lösungsmittelsystem Butanol-Essigsäure einen R_F -Wert von 0,55 fest. In gleicher Weise verglichen T. B. GAGE, C. D. DOUGLAS und S. H. WENDER⁶¹⁾ Flavonglykoside in mehreren Lösungsmittelgemischen, mitunter auch in sauren Systemen, und konnten darin für Hesperidin R_F -Werte belegen. Eine Wiederholung dieser Versuche blieb jedoch in saurem Milieu ohne Erfolg.

Wir erprobten nun eine Reihe von organischen Lösungsmitteln mit dem Ziel, Diosmin und Hesperidin wanderungsfähig zu machen. Es gelang in neutralen Lösungsmitteln, worin sie sich in geringem Maße lösten.

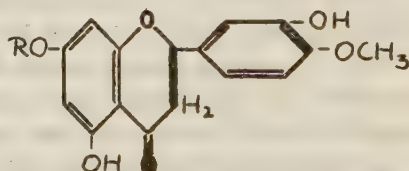
Sodann suchten wir nach einem genügend selektiven Lösungsmittelsystem. Dabei fiel auf, daß Diosmin und Hesperidin in den meisten Gemischen fast dieselbe Laufhöhe aufwiesen. Dies erklärt sich aus dem geringen chemischen Unterschied der beiden Glykoside:

Formel 2



Diosmin

Formel 3



Hesperidin

R = Rhamnose +
Glukose

60) E. C. BATE-SMITH, Partit. Chrom. biochem. Soc. Symp. 3, 68 (1951).

61) T. B. GAGE, C. D. DOUGLAS u. S. H. WENDER, Analytic. Chem. 23, 4583 (1951).

Ausgehend von dem System Butanol-Eisessig-Wasser (4+1+5), in welchem die beiden Flavonglykoside nicht wanderten, erzielten wir durch Austausch des Eisessigs mit verschiedenen Homologen der einwertigen Alkohole ein besseres Resultat. Der Methanolzusatz ließ nur einen Laufhöhenunterschied, aber keine Trennung der beiden Substanzen erkennen. Ähnlich wie Methanol verhielten sich auch Azeton und Äthylazetat. Weniger geeignet waren Äthanol und Isopropanol. Die störende Schwanzbildung war in keinem Falle ganz zu beseitigen.

Das Fehlen von Butanol im Gemisch wirkte sich sehr ungünstig aus. Beimischungen von Benzol oder Chloroform begünstigten teilweise das Chromatogrammbild. Verschiedene Lösungsmittelgemische als Zusätze zum Butanol-Wasser-Gemisch wiesen nur im System Butanol-(Isopropanol, Methanol, Äthylazetat, Azeton)-Wasser (4+(2)+4) einen sicheren Unterschied auf. Hesperidin lief in allen brauchbaren Gemischen langsamer als Diosmin.

Versuche, die etwas langgezogenen Chromatogrammflecke schärfer und abgerundeter zu erhalten, waren im System Butanol-Azeton-Isopropanol-Wasser (4+2+2+4) und (4+1+1+4) möglich, doch mit dem Nachteil, daß hierbei die Substanzen wieder auf gleiche Höhe zu liegen kamen.

Pyridin und α -Picolin verbesserten zwar die Löslichkeit der Substanzen, verschlechterten aber einmal die Laufhöhenunterschiede und zum anderen die Fleckenbildung. Ähnlich wirkte sich die Zugabe von Anilin aus.

Von den in Tabelle 9 auf Seite 57 zusammengestellten 52 Lösungsmittelsystemen erwiesen sich 3 als brauchbar, um Diosmin und Hesperidin in ihren R_F -Werten unterscheiden zu können. Nach Belassen der Chromatogrammpapiere in Ammoniakatmosphäre oder nach Besprühen mit Barytwasser zeichneten sich unter dem UV-Licht hellgelbe Flecke ab. Eine Trennung aus der Mischung dieser beiden Flavonglykoside blieb wegen der Schwanzbildung erfolglos.

T a b e l l e 5

Lösungsmittelsystem	R_F -Werte	
	Hesperidin	Diosmin
Butanol-Methanol-Wasser (4+1+5)	0,39	0,42
Butanol-Azeton-Wasser (4+1+5)	0,36	0,40
Butanol-(Isopropanol, Me- thanol, Äthylazetat, Aze- ton)-Wasser (4+(2)+4)	0,53	0,56

Der Vergleich dieser Ergebnisse mit den von uns isolierten Flavonoiden aus den drei *Mentha*-Arten zeigte, daß es sich hierbei um Diosmin handelte. Außerdem stellten wir auf diesen Chromatogrammpapieren mit Hilfe der Sprühreagenzien noch jeweils ein Flavonglykosid mit niedrigerem R_F -Wert fest, das vorerst unbekannt blieb.

Nach dieser Arbeitsweise sicherten wir das Diosmin aus weiteren Rückständen salzsaurer Pflanzenextrakte und zwar in: *Hyssopus officinalis*, *Mentha crispa*, *Mentha Dossiniána*, *Mentha longifolia*, *Mentha piperita*, *Mentha Pulegium*, *Mentha rotundifolia*, *Rosmarinus officinalis* und *Satureja hortensis*.

Hierbei fiel auf, daß das Kraut von *Hyssopus officinalis* und *Mentha Pulegium* dieses zweite noch unbekannte Flavonglykosid nicht enthielten.

b) Versuche zur Trennung der Mischkristallisate mit Hilfe der Säulenchromatographie:

Die Diosmin-enthaltenden Mischkristallisate aus den drei *Mentha*-Arten versuchten wir mit Hilfe der Säulenchromatographie zu trennen, um die beiden Komponenten, vor allem das zweite noch unbekannte Flavonglykosid noch näher charakterisieren zu können.

Hierzu gaben wir die methanolische Lösung des Mischkristallisates auf eine Zellulose-Säule^{*)} und verwendeten nacheinander als mobile Phase die unter a) (s. S. 22) beschriebenen drei Lösungsmittelsysteme:

Butanol-Methanol-Wasser (4+1+5)

Butanol-Azeton-Wasser (4+1+5)

Butanol-(Isopropanol, Methanol, Äthylazetat, Azeton)-
Wasser (4+(2)+4).

Die unter dem UV-Licht beobachtete starke Überschneidung der zwei sich entwickelnden Zonen konnten wir auch bei Variation der Säulenlänge, der Lösungsmittelsysteme, sowie durch Verwendung von Magnesol^{**)} anstelle des Zellulosepulvers nicht beseitigen, so daß die Trennung der Flavonglykoside ohne Anwendung eines Fraktionsschneiders auch bei Änderung des Lösungsmittelsystems wenig aussichtsreich erschien. Nachdem auch die Versuche der fraktionierten Kristallisation, sowie das Ausschüttelungsverfahren scheiterten, verfolgten wir die weiteren Untersuchungen nur noch papierchromatographisch.

c) Die bei der Hydrolyse nach C. CHARAUX und J. RABATÉ⁶²⁾ erhaltenen Aglykongemische der drei *Mentha*-Arten lösten wir in Äthanol und chromatographierten. Während das eine Aglykon mit Diosmetin übereinstimmte, war das andere Aglykon mit Luteolin identisch. Dies bestätigten wir mit Aluminiumsulfat- und basischer Bleiazetatlösung (siehe Tab. 10 u. 11, S. 60).

Die eingangs erwähnte Schmelzpunktserniedrigung aller isolierten Flavonoidgemische aus *Mentha longifolia*, *Mentha piperita* und *Mentha rotundifolia* findet darin seine Erklärung, daß das Diosmin mit einem Luteolinglykosid verunreinigt war.

5. Zusammenfassung der Glykosiduntersuchungen

Aus drei *Scutellaria*- und zwei *Galeopsis*-Arten isolierten wir das Flavonglukuronid Scutellarin und aus drei *Mentha*-Arten ein aus

62) C. CHARAUX u. J. RABATÉ, J. Pharmac. Chim. 9, 401 (1940).

*) Zellulosepulver Nr. 123a der Firma Schleicher & Schüll, Dassel.

**) Magnesol amerikanischer Herkunft.

Diosmin und Luteolinglykosid bestehendes Mischkristallisat. Zusätzlich untersuchten wir 32 Arten papierchromatographisch auf das Vorkommen von Flavonglykosiden und stellten folgende Ergebnisse fest:

- a) Im einzelnen konnte aus den Arten *Scutellaria alpina*, *Scutellaria canascens*, *Scutellaria Orientalis*, *Galeopsis Tetrahit* und *Galeopsis ochroleuca* jeweils ein Flavonglykosid neu isoliert werden, das in sämtlichen physikalischen und chemischen Daten mit der aus *Scutellaria altissima* gewonnenen Testsubstanz Scutellarin übereinstimmte.
- b) Das mit einem Luteolinglykosid verunreinigte Diosmin isolierten wir aus *Mentha longifolia*, *Mentha piperita* und *Mentha rotundifolia*. Außerdem wiesen wir Diosmin papierchromatographisch in den Arten *Hyssopus officinalis*, *Mentha crispa*, *Mentha Dossiniána*, *Mentha Pulegium*, *Rosmarinus officinalis* und *Satureja hortensis* nach, nicht aber Hesperidin, was F. BORODIN⁶³⁾, A. TSCHIRCH⁶⁴⁾, E. HIMMELBAUR⁶⁵⁾, O. TUNMANN⁶⁶⁾, H. MITLACHER⁶⁷⁾ und H. BRUNSWIK⁶⁸⁾ angeben. Bemerkenswert ist, daß das Diosmin nur in ätherisches-Öl-führenden Arten gefunden wurde.
- c) Die chemisch sehr ähnlichen Flavonglykoside Diosmin und Hesperidin wurden in drei neu zusammengestellten Systemen in ihren R_f -Werten unterschieden.

6. Papierchromatographische Untersuchungen der Aglykone nach Hydrolyse der wässerigen Pflanzenauszüge

Nach Isolierung und Identifizierung der umstrittenen Flavonglykoside Scutellarin und Diosmin setzten wir die weiteren Untersuchungen der Pflanzenextrakte auf papierchromatographischem Wege fort.

Wie bereits eingangs erwähnt⁶⁹⁾, hydrolysierten wir die wässerigen Gesamtextrakte der Pflanzen mit wechselnder Säurekonzentration.

- 63) F. BORODIN, S.-B. Abh. naturforsch. Ges. Petersburg (1883).
- 64) A. TSCHIRCH u. O. A. OESTERLE, Anatomischer Atlas der Pharmakognosie u. Nahrungsmittelkunde, Leipzig 1900, Bd. I, S. 75.
- 65) E. HIMMELBAUR, Z. landw. Versuchswesen Österreich (1914).
- 66) O. TUNMANN, Z. allg. österr. Apothekervereins 20 (1906).
- 67) H. MITLACHER, Z. allg. österr. Apothekervereins 46 (1908).
- 68) H. BRUNSWIK, Z. allg. österr. Apothekervereins 36 (1920).
- 69) L. HÖRHAMMER, H. WAGNER u. H. GÖTZ, Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. 291/63, 44 (1958).

ration. Nach Ausschüttelung der Genine mit einem Äther-Äthylacetat-Gemisch wurden die konzentrierten Lösungen in den Lösungsmittelsystemen Essigsäure-Wasser (6+4)⁷⁰⁾, Isopropanol-Ameisensäure-Wasser (2+5+5)⁷¹⁾ und Nitromethan-Benzol-Eisessig-Wasser (5+10+10+20)⁷¹⁾ chromatographiert.

Bei den papierchromatographischen Untersuchungen von 70 Arten wurden nach Hydrolyse der gereinigten Gesamtauszüge fünf immer im Wechsel wiederkehrende Aglykone nachgewiesen. Wir bezeichneten sie mit den Anfangsbuchstaben Q, K, L, S und A (s. Tab. 6).

Die Aglykone haben in den unten angeführten Lösungsmittelsystemen folgende R_f -Werte und besitzen im einzelnen die auf der nächsten Seite wiedergegebenen Strukturen:

T a b e l l e 6

Lösungsmittelsysteme *)	R_f -Werte für Substanzen				
	Q	K	L	S	A
E-W (6+4)	0.30	0.45	0.50	0.50	0.64
P-A-W (2+5+5)	0.22	0.35	0.40	0.40	0.52
N-B-E-W- (5+10+10+20)	0.15	0.25	0.28	0.28	0.43

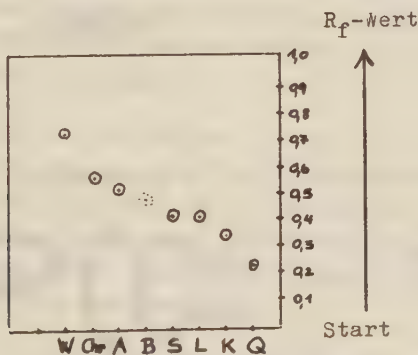


Abb. 1

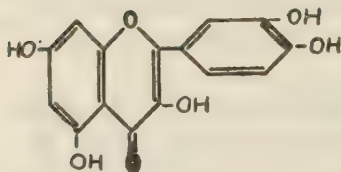
Chromatogrammbild der Flavonaglykone im Isopropanol-Ameisensäure-Wasser-System (2+5+5)

70) T. B. GAGE, C. D. DOUGLAS u. S. H. WENDER, Analytic. Chem. 23 1583 (1951).

71) L. HÖRHAMMER, H. WAGNER u. H. GÖTZ, Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. 291/63, 44 (1958).

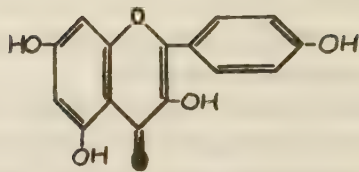
*) E-W = Essigsäure-Wasser ; P-A-W = Isopropanol-Ameisensäure-Wasser; N-B-E-W- = Nitromethan-Benzol-Essigsäure-Wasser.

Formel 4



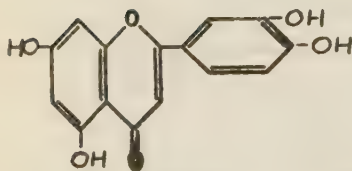
Quercetin

Formel 5



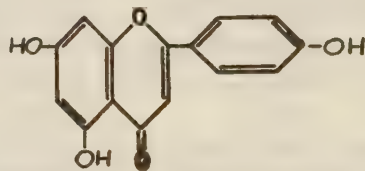
Kämpferol

Formel 6



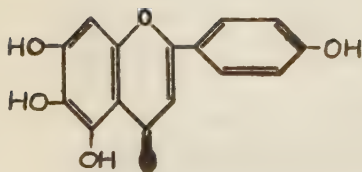
Luteolin

Formel 7



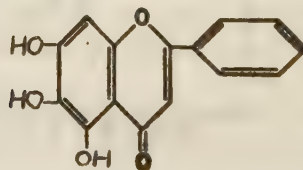
Apigenin

Formel 8



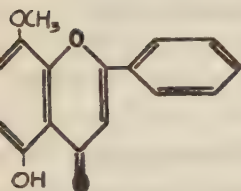
Scutellarein

Formel 9



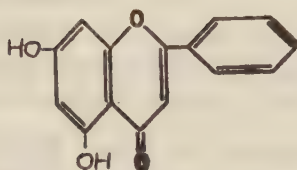
Baicalein

Formel 10



Wogonin

Formel 11



Chrysin

Glykon Q konnte authentischem Quercetin zugeordnet werden. Die R_F -Werte und die Farbtteste mit Aluminiumsulfat- und basischer Bleiazetatlösung stimmten überein.

Glykon K erwies sich als Kämpferol, nachdem es im Vergleich mit Rhamnazin, Rhamnetin und Fisetin durch basische Bleiazetatlösung und durch seinen R_F -Wert gekennzeichnet wurde.

Glykon L war unter dem UV-Licht als dunkler Fleck sichtbar, während die Flavonole Quercetin, Kämpferol und Rhamnazin gelb fluoreszierten. Obwohl das Aglykon mit Scutellarein gleiche R_F -Werte hatte, sprachen die Farbtteste mit Barytwasser und mit basischer Bleiazetatlösung nur für Luteolin.

Glykon A war in seinen Farbtesten und in seinen R_F -Werten dem Luteolin gleich. Es trennte sich im Essigsäure-Wasser-Gemisch gut von Luteolin und bildete schön begrenzte Flecke, während im Isopropanol-Ameisensäure-Wasser- und Nitromethan-Benzol-Eisessig-Wasser-System meistens nur eine undeutliche Unterscheidung der Chromatogrammflecke zu erkennen war.

Glykon S konnte als Scutellarein identifiziert werden, nachdem mit der Testsubstanz Scutellarein und mit Luteolin chromatographiert und mit den Sprühreagenzien Barytwasser und mit basischer Bleiazetatlösung verglichen wurde. Die Fluoreszenzen waren charakteristisch.

Auf den Nachweis des Baicaleins (B) (s. Abb. 1, S. 27) mußte im Rahmen der Arbeit verzichtet werden, da diese Substanz weder infolge des fehlenden Drogenmaterials aus *Scutellaria baicalensis* isoliert, noch anderweitig beschafft werden konnte. Doch auf Grund der Anzahl der Hydroxylgruppen dürfte das Baicalein hydrophober sein als Scutellarein und im R_f -Bereich zwischen Scutellarein und Apigenin liegen.

Das gleichfalls in dieser Wurzeldorge enthaltene Wogonin^{*)} (W) (s. Abb. 1, S. 27) war in keinem der Pflanzenextrakte, auch nicht in den Wurzelextrakten der von uns geprüften *Scutellaria*- und *Galeopsis*-Arten nachzuweisen. Inwieweit nun die Biosynthese dieses Flavons standortsbedingt ist, konnte aus gleichen Gründen, wie oben nicht festgestellt werden.

C. A. MARSH⁷²⁾ berichtet über die Isolierung von Chrysin aus den Blättern der *Scutellaria galericulata*. Da uns zum papierchromatographischen Vergleich diese Substanz fehlte, isolierten wir aus *Gemmae populi*^{**)} nach G. KLEIN⁷³⁾ das Flavongemisch Chrysin-Tectochrysin, welches nach dieser Methode nicht mehr weiter zu trennen war. Das Chromatogramm zeigte unter dem UV-Licht zwei Flavonflecke; Das Flavon mit dem kleineren R_f -Wert fluoreszierte gelb und das andere war dunkel. Daß es sich tatsächlich um ein Mischkristallisat handelte, wurde auch durch die Frontalanalyse auf einer Perlonsäule^{***)} bestätigt. Da sich Tectochrysin vom Chrysin nur durch die Methoxygruppe am C_7 unterscheidet, war aus dieser konstitutionellen Verschiedenheit ohne weiteres abzuleiten, welches der beiden Flavone dem Chrysin bzw. dem Tectochrysin zuzuordnen war. Tectochrysin ist im Vergleich zu Chrysin hydrophober und muß daher den höheren R_f -Wert beanspruchen. Die zweite Substanz mit den R_f -Werten:

in Butanol-Eisessig-Wasser (4+1+5) = 0,90,

in Eisessig-Wasser (6+4) = 0,66 und

in Isopropanol-Ameisensäure-Wasser = 0,54

(2+5+5)

72) C. A. MARSH, Nature, London 176, 176 (1955).

73) G. KLEIN, Handbuch der Pflanzenanalyse, Wien 1932, Bd. III/2.

*) Wir danken Herrn Prof. S. Hattori, Tokyo, für die Übersendung der Substanz.

**) bezogen von der Firma Caesar & Loretz, Michelstadt.

***) W. LEEB, Dissertation, München (in Vorbereitung).

muß daher mit Chrysin identisch sein. Eine präparative Auftrennung des Mischkristallisates für den papierchromatographischen Vergleich erübrigte sich daher.

Bei der Untersuchung sämtlicher Pflanzenextrakte auf Chrysin (Chr) (s. Abb. 1, S. 27) konnten wir allerdings nur in der Blüte der *Scutellaria baicalensis* gleiche R_f -Werte feststellen. Da aber die angewendeten Sprühteste keine einwandfreien Farbreaktionen ergaben und außerdem wegen des geringen Blütenmaterials, das zur Verfügung stand, keine Isolierung möglich war, kann das Vorkommen von Chrysin nicht mit Sicherheit angegeben werden.

7. Diskussion der Aglykonuntersuchungen

Als Ergebnis der papierchromatographischen Aglykonuntersuchungen konnten wir in 70 Arten Flavone nachweisen:

- a) Alle Arten innerhalb der Familie der Labiaten sind in der Hauptsache zur Bildung von 5-Oxyflavonen befähigt.
- b) Der Vermutung von H. MOLISCH⁷⁴⁾, das Vorkommen von Scutellarein stelle ein Charakteristikum der Labiaten dar, muß widersprochen werden. Wie bereits bei den Glykosiduntersuchungen angeführt, bilden nur die *Scutellaria*- und *Galeopsis*arten Scutellarein. Im Gegensatz zu H. MOLISCH und E. STRECKER⁷⁵⁾ stellten wir in *Teucrium Chamaedrys*, *Teucrium Scordonia* und in *Thymus*arten, auch in Arten verschiedener Standorte, kein Scutellarein, sondern nur Luteolin bzw. Luteolin vergesellschaftet mit Apigenin fest.
- c) Im Kraut der *Scutellaria baicalensis* fanden wir Scutellarein, in den Blüten außerdem noch Apigenin.
- d) Daß auch die *Scutellaria*-Arten Luteolin bilden, zeigt das Vorkommen von Luteolin in den Blüten der *Scutellaria alpina*, die zugleich noch Apigenin als Nebenflavon führen. Die Flavone Scutellarein und Luteolin stellten wir ebenfalls im Kraut von *Galeopsis Tetrahit* fest. Die Blüte enthielt Luteolin und die Samen nur Scutellarein.

74) H. MOLISCH, S.-B. Akad. Wiss. Wien 1, 110 (1901).

75) H. MOLISCH u. E. STRECKER, S.-B. Akad. Wiss. Wien 118, 1379 (1909).

- f) Von wenigen Ausnahmen abgesehen, entwickeln alle untersuchten Labiaten Luteolin. So fanden wir dieses Flavon in *Lycopus*-, Lavendel- und in *Teucrium*-Arten; in den *Mentha*-, *Salvia*-, *Stachys*- und *Thymus*-Arten ist Luteolin, mit wenigen Ausnahmen, vorwiegend mit Apigenin vergesellschaftet.
- Nach J. F. SCHALLER⁷⁶⁾ enthält *Thymus vulgaris* zwei Flavonglykoside und zwar Dimethylquercetinglucosid mit dem R_f -Wert 0,40 und ein noch unbekanntes Flavon-3-glycosid mit dem R_f -Wert 0,18 (Lösungsmittelsystem: Äthylazetat-Ameisensäure-Wasser, 10+2+3). Wir vermissen hierbei aber den Nachweis der Flavone Luteolin und Apigenin, die von uns in den meisten *Thymus*-Arten und im besonderen in *Thymus vulgaris* festgestellt wurden.
- g) Auffallend war, daß die Flavonole nur selten vorkommen. L. HÖRHAMMER und K. H. MÜLLER⁷⁷⁾ charakterisierten papierchromatographisch in *Lamium*- und *Prunella*-Arten Flavonol-3-glykoside mit den R_f -Werten 0,18 und 0,28. Unsere Untersuchungen ergaben, daß die *Prunella*- und *Lamium*-Arten, ferner *Coleus glaucocalyx* (*Plectranthus*) und spurenweise *Glechoma hederaceum* Quercetin führen. Mit Kämpferol zusammen trafen wir Quercetin in *Orthosiphon stamineus* und in *Lamium album*, wobei die Blüte der letzteren im besonderen Quercetin-haltig ist.
- h) Kämpferol allein war nur in *Hyptis capitata* zu finden, was auch K. KOBAYASHI⁷⁸⁾ bestätigt.
- i) Die systematische Prüfung auf Baicalein war im Zusammenhang der Vergleiche nicht möglich, da uns die Testsubstanz nicht zur Verfügung stand.
- k) Das Vorkommen von Wogonin dürfte nur auf die Wurzeldroge von *Scutellaria baicalensis* beschränkt sein, denn in mehreren untersuchten Wurzelrogen anderer *Scutellaria*-Arten und in *Galeopsis tetrahit* war dieses Flavon nicht nachzuweisen.
- l) Chrysin wurde in keiner Art angetroffen. Die Blüte der *Scutellaria baicalensis* enthielt eine Substanz, die mit Chrysin gleichen R_f -Wert hatte, doch stimmten die Farbreaktionen nicht damit überein.

76) J. F. SCHALLER, Dissertation, Braunschweig 1957.

77) L. HÖRHAMMER u. K. H. MÜLLER, Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. 287/59, 310 (1954).

78) K. KOBAYASHI, J. pharmac. Soc. Japan 72, 1 (1952).

8. Zusammenfassung der Ergebnisse

Im Rahmen einer systematischen Übersichtsarbeit über das Vorkommen von Flavonen in der Familie der Labiataen konnten aus drei Scutellaria- und zwei Galeopsis-Arten Scutellarin und aus drei Mentha-Arten ein Mischkristallisat aus Diosmin und Luteolin-glykosid isoliert werden. Hesperidin war in keinem Falle isolierbar und kommt daher entgegen den früheren Angaben von F. BORODIN⁷⁹⁾, A. TSCHIRCH⁸⁰⁾, E. HIMMELBAUR⁸¹⁾, O. TUNMANN⁸²⁾, H. MITTLACHER⁸³⁾ und H. BRUNSWIK⁸⁴⁾ in der Familie nicht vor. Auffallend ist die Anhäufung von Diosmin in Mentha-Arten, die ätherisches Öl enthalten. Papierchromatographisch führte die Untersuchung von weiteren 70 Arten nach Hydrolyse der Extrakte zum Nachweis der Aglykone Luteolin und Apigenin, die meistens miteinander vergesellschaftet sind. Die Flavonole Quercetin und Kämpferol werden nur in einzelnen Arten gebildet. Analytisch war es auf Grund UV-spektrophotometrischer Vergleichsmessungen möglich, die C₇-Substitution im Scutellarin zu sichern. Mit Hilfe eines modifizierten Baryt-Testes gelang die genaue Unterscheidung von Scutellarein und Luteolin.

C. Diskussion der Ergebnisse

Wenn die an mehr als 70 Arten der Familie durchgeführten papierchromatographischen Untersuchungen zu einer Verallgemeinerung berechtigen, könnte man geneigt sein, das häufige Auftreten von Scutellarin bzw. von Diosmin als Art- bzw. Familienmerkmal anzusehen. Diese Schlußfolgerung mag zunächst nur für das Scutellarin gelten, da sein Vorkommen in anderen Familien bisher noch kaum bekannt ist. Untersucht man diese beiden Flavontypen auf ihre strukturellen Besonderheiten, so ist auffallend, daß beim Scutellarin sowohl die Hydroxylsubstitution im Ring A,

79) F. BORODIN, S.-B. Abh. naturforsch. Ges. Petersburg (1883).

80) A. TSCHIRCH u. O. A. OESTERLE, Anatomischer Atlas der Pharmakognosie u. Nahrungsmittelkunde, Leipzig 1900, Bd. I, S. 75.

81) E. HIMMELBAUR, Z. landw. Versuchswesen Österreich (1914).

82) O. TUNMANN, Z. allg. österr. Apothekervereins 20 (1906).

83) H. MITTLACHER, Z. allg. österr. Apothekervereins 46 (1908).

84) H. BRUNSWIK, Z. allg. österr. Apothekervereins 36 (1920).

als auch die Anwesenheit der Glukuronsäure an Stelle der sonst üblichen Zuckerreste Glukose und Galaktose eine bei Flavonen sonst nirgends beobachtete Ausnahme darstellen. Für die strukturelle Eigenart des Diosmins kann die Methoxylierung am 4' des Seitenphenyls angeführt werden, obwohl die Bildung von Methylderivaten auch einer Reihe anderer Pflanzenfamilien eigen ist.

Bevor auf diese strukturellen Eigenheiten im Rahmen der allgemeinen Diskussion über die Biogenese eingegangen wird, muß bekannt sein, wie man sich heute auf Grund der neuesten experimentellen Ergebnisse die Biogenese der Flavone und der Terpene im allgemeinen und für die verschiedenen Konfigurationstypen im einzelnen vorzustellen hat.

Mangels definitiver experimenteller Beweise wurden die bisherigen Kenntnisse hierüber in der Hauptsache von hypothetischen Auffassungen getragen; erst in den letzten Jahren gelang es mit Hilfe der C¹⁴-Isotopentechnik, zu einer gewissen Klärung zu gelangen. Obwohl man über die mutmaßlichen Vorstufen der Flavone oftmals sehr unterschiedliche Vorstellungen gehabt hat - so vermuteten noch T. A. GEISSMAN und E. HINREINER⁸⁵⁾, daß für die Bildung des Ringes A im Flavonmolekül die Gallussäure oder auch die Glukose in Frage komme, während A. FREY-WYSSLING⁸⁶⁾ das aus α -Aminosäuren durch Desaminierung und Dehydrierung entstehende Isopren hierfür verantwortlich macht - stimmen fast alle bisherigen Hypothesen darin überein, daß die Ringe A und B getrennt entstanden sein müssen und erst anschließend über ein C₃-Zwischenglied durch heterocyclischen Ringschluß zum Flavonmolekül verknüpft werden. Für die Bildung des Ringes B wurden von A. J. BIRCH⁸⁷⁾, T. A. GEISSMAN und J. B. HARBORNE⁸⁸⁾ und besonders wieder in neuerer Zeit durch H. REZNIK und R. URBAN⁸⁹⁾ die Kaffeesäure, die Chlorogensäure, die p-Cumarsäure bzw. ihre Ester und auch die Zimtsäure und Shikimisäure als Vorstufen

85) T. A. GEISSMAN u. E. HINREINER, Bot. Rev. 18, 3 (1952).

86) A. FREY-WYSSLING, Naturwissenschaften 26, 524 (1938).

87) A. J. BIRCH, Austral. J. Chem. 6, 360 (1953).

88) T. A. GEISSMAN u. J. B. HARBORNE, Arch. Biochem. Biophysics 55, 447 (1955).

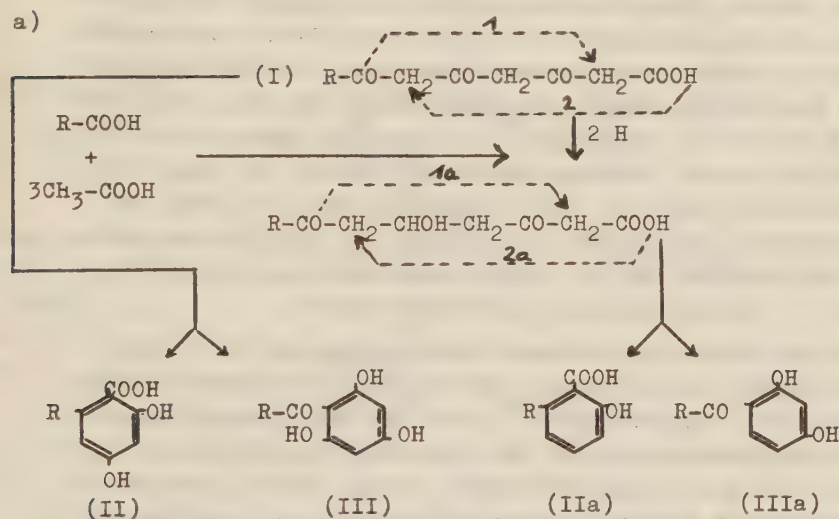
89) H. REZNIK u. R. URBAN, Naturwissenschaften 44, 22 (1957).

angegeben. Einen bedeutenden Fortschritt in der Klärung dieser teilweise noch sehr hypothetischen Auffassungen brachten in letzter Zeit die Arbeiten von H. GRIESEBACH⁹⁰⁾, in denen gezeigt wird, daß der Phloroglucinkern im Anthocyan und sehr wahrscheinlich auch im Flavonmolekül durch eine Kopf-Schwanz-Addition nach einem von A. J. BIRCH⁹¹⁾ angegebenen Reaktionsschema aus Azetyleinheiten entstanden sein muß. Ein solches Reaktionsschema hat schon früher J. N. COLLIE⁹²⁾ für den Aufbau von einfachen Phenolen angenommen. Wie man sich hiernach den Aufbau von Phenolen und ein Dioxyflavon vorzustellen hat, verdeutlicht das folgende Schema:

Kopf-Schwanz-Addition von Azetyleinheiten zur Bildung

a) einfacher Phenole und

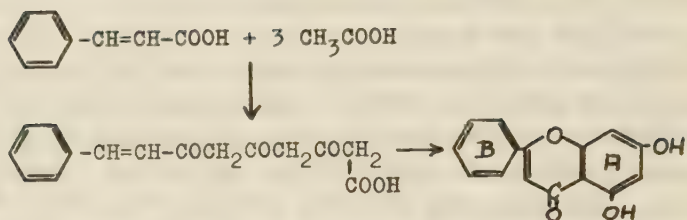
b) des Flavongerüstes.



90) H. GRIESEBACH, Z. Naturforsch. 12b, 227 (1957).

91) A. J. BIRCH, Perspectives in Organic Chemistry, New York 1956, S. 134.

92) J. N. COLLIE u. T. P. HILDITCH, J. chem. Soc. (London) 91, 787 (1907).



Was die Bildung des Ringes B betrifft, so glaubt man heute, mit Sicherheit sagen zu können, daß er in ähnlicher Weise entstanden ist, wie er von G. EBERHARD und W. J. SCHUBERT⁹³⁾ für die Ligninbildung bewiesen wurde. Hiernach stammt die Phenylpropaneinheit aus der Prephensäure bzw. aus der Shikimisäure, die von B. D. DAVIS⁹⁴⁾ bei der Synthese aromatischer Aminosäuren aus *Escherichia coli* als Zwischenprodukt aufgefunden wurde. Die Tatsache, daß die Substituenten am Ring B bevorzugt in der gleichen Orientierung vorkommen wie in Coniferylalkohol, in der Kaffeesäure und anderen Phenylpropanabkömmlingen, dürfte ebenfalls für eine Beteiligung einer C₆-C₃-Einheit mit dem Ring B sprechen. Wenn sich die von H. GRIESEBACH⁹⁵⁾ am Cyanidin gemachten Beobachtungen durch weitere Versuche bestätigen lassen, "so läge hier der interessante Fall vor, daß in einem Molekül zwei Wege der Aromatisierung alicyclischer Verbindungen - der Weg über Glukose zu Shikimisäure und die Kopf-Schwanz-Addition von Azetyleinheiten - von der Pflanze bestritten wird."

Wenn man damit die heutigen Anschauungen über die Terpen-Synthese vergleicht, so ist man überrascht, mit welchem Scharfsinn derselbe A. FREY-WYSSLING⁹⁶⁾, der für die Flavonbiogenese ein Reaktionsschema entworfen hat, auch die Terpenbiogenese erklärt hat. Der Autor vermutete damals schon, daß das Isopren die Schlüsselsubstanz für die Bildung der Flavone aus Phenylalanin und Isopren einerseits und die Kondensation und Ringschlußbildung zu den Terpenen andererseits darstelle. Interessanterweise

93) G. EBERHARD u. W. J. SCHUBERT, J. Amer. chem. Soc. 78, 2835 (1956).

94) B. D. DAVIS, Inst. Superiore Sanità (Rome) 23 (1953); John Hopkins Univ. Press 799 (1955).

95) H. GRIESEBACH, Z. Naturforsch. 12b, 227 (1957).

96) A. FREY-WYSSLING, Naturwissenschaften 26, 624 (1938).

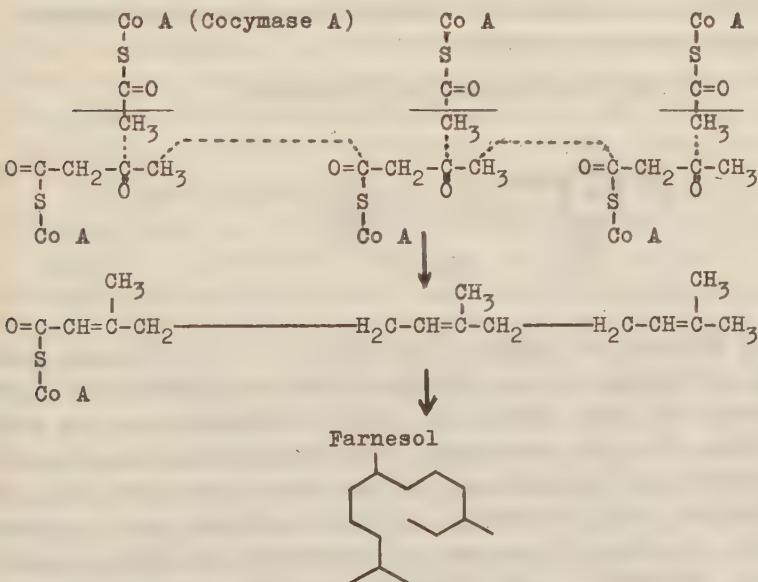
konnte nun L. RUZICKA⁹⁷⁾, der sich mit der Biogenese des Isoprens beschäftigte, zeigen, daß die Bildung der natürlich vorkommenden cyclischen Terpenverbindungen aus ihren einfachen Vorstufen, wie Geraniol, Farnesol und Geranoyl-Geraniol ebenfalls von der Azetylgruppe des Azetoazetyl-Coenzyms A als Ausgangsprodukt erfolgt (siehe Reaktionsschema).

Damit ist aber bereits die Verknüpfung beider Synthesewege gegeben.

R e a k t i o n s s c h e m a

zur Bildung eines cyclischen Terpens

Farnesolbild vom Typ Sesquiterpen:



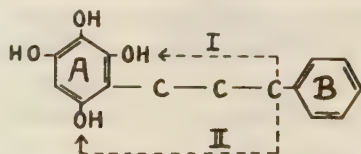
Die nun folgende Frage lautet, ob in den strukturellen Besonderheiten der beiden Stoffgruppen, nämlich dem Scutellarin und dem Diosmin einerseits und den cyclischen Terpenen Borneol,

⁹⁷⁾ L. RUZICKA, *Experientia* (Basel) 9, 357 (1953).

Carvacrol, Carvon, Cinneol, Paracymol, Dipenten, Menthol und Menthon auf der anderen Seite eine gewisse Ähnlichkeit im Aufbau zukommt bzw. ob und inwieweit die Verbindungen Rückschlüsse auf gemeinsame oder parallel laufende Synthesewege erlauben.

Für das Scutellarin haben wir den stark hydroxylierten Ring A und den oxydierten Zuckerrest als auffallend hervorgehoben, für das Diosmin die Tatsache des methoxylierten Ringes B. Zum ersten Punkt kann vorerst nur die Feststellung von K. R. RAO und T. R. SESHADRI⁹⁸⁾ wiederholt werden, daß der Ring A als dreifach oxydierter Kern bereits vor dem heterocyclischen Ringschluß ausgebildet sein muß, da aus einer in *Scutellaria baicalensis* aufgefundenen Vorstufe in einem Fall das Wogonin (I = 5,7-Dihydroxy-8-methoxyflavon) und in einer anderen Reaktion das Baicalein (II = 5,6,7-Trihydroxyflavon) entstehen. In einer ähnlichen Reaktion dürfte das Scutellarin selbst entstanden sein.

Bildung von Wogonin bzw. Baicalein



Was die Bildung des Ringes A im Scutellarin betrifft, so könnte man sich unabhängig von der Bildung durch Kopf-Schwanz-Addition der Azetyleinheiten auch vorstellen, daß die Shikimisäure die Vorstufe darstellt. Was die Anwesenheit der Glukuronsäure angeht, so ist ihr Auftreten im Zusammenhang mit dem stark oxydierten Ring A wohl bemerkenswert aber keineswegs charakteristisch, da die Glukuronsäure auch in anderen Flavonen als Zuckerrest angetroffen wird. So erwähnt A. TSCHIRCH⁹⁹⁾ sein Vorkommen auch in *Radix Liquiritiae*. C.A. MARSH¹⁰⁰⁾ beschrieb in letzter Zeit ein Quercetinglukuronid in

98) K. R. RAO u. T. R. SESHADRI, Proc. Indian Acad. Sci. 222 (1943).

99) A. TSCHIRCH u. O. OESTERLE, Anatomischer Atlas der Pharmakologie und Nahrungsmittelkunde, Leipzig 1900, Bd. I, S. 75.

100) C. A. MARSH, Nature (London) 176, 176 (1955).

Phaseolus vulgaris und ein Chrysinglukuronid in *Scutellaria galericulata*. Weiter finden K. IMAI und T. MAYAMA¹⁰¹⁾ ein Apigeninglukuronid in den Blüten von *Erigeron annuus*.

Mehr Hinweise findet man für das Auftreten der OCH_3 -Reste. Soweit nämlich die bisherigen systematischen Arbeiten reichen, kann als bemerkenswert gelten, daß Methylderivate vorwiegend in der Familie der milchsaftführenden Compositen¹⁰²⁾¹⁰³⁾ und den Rutaceen, die ätherisches Öl enthalten, und nunmehr auch in den Labiaten angetroffen werden. Man muß daher zu der Annahme neigen, daß zwischen der Synthese von Milchsaft bzw. ätherischem Öl und den Methylderivaten Beziehungen bestehen. Es wäre denkbar, daß entweder das Isopren bzw. dessen Spalt- oder Abbauprodukt oder die Azetylgruppe des Azetoazetyl-Coenzyms A in diese Methylierung eingreift, da auch L. RUZICKA¹⁰⁴⁾ beweisen konnte, daß sowohl die Carbonylgruppe als auch die Methylgruppe des Azetats zu einer solchen Methylierungsreaktion Anlaß geben kann. Anhaltspunkte, warum solche Methylderivate nicht in den *Lavandula*-, *Salvia*-, *Melissa*- und *Thymus*arten vorkommen, wurden aber nicht gefunden.

Im ganzen gesehen ist es auf Grund der neuesten Arbeiten nunmehr möglich, die Biogenese der Flavone und der Terpene miteinander in direkte Verbindung zu bringen. Während die Ausbildung des Scutellarins außer den oben beschriebenen Reaktionen keine näheren Zusammenhänge erkennen läßt, kann eine solche für das Methylderivat Diosmin ohne weiteres postuliert werden. Es wird die Aufgabe weiterer systematischer Untersuchungen sein, auch noch die anderen Inhaltsstoffe zu erfassen und mit Hilfe von Isotopenversuchen die genaueren Reaktionen der Biosynthese beider Stoffgruppen zu verfolgen, bevor eine endgültige Aussage darüber möglich ist, inwieweit und ob überhaupt die Synthese bestimmter Flavontypen einer phytochemischen Regel folgt und von der Terpensynthese abhängig ist.

101) K. IMAI u. T. MAYAMA, J. pharmac. Soc. Japan 73, 131 (1953).

102) P. TUNMANN u. O. ISAAC, Angew. Chem. 67, 708 (1955).

103) Z. CEKAN u. V. HEROUT, Chem. Listy 49, 1053 (1955).

104) L. RUZICKA, Experientia (Basel) 9, 357 (1953).

III. Experimenteller Teil

A. Allgemeine Arbeitsmethoden

1. Herkunft der Pflanzen

Zu unseren papierchromatographischen Vergleichen verwendeten wir Pflanzen aus dem mittelfränkischen Gebiet, aus dem Raume Ansbach und Feuchtwangen und einige aus dem Alpenvorland. Den größeren Teil der Pflanzen, vorwiegend exotische Exemplare, entstammten dem Botanischen Garten, München *).

Wir sammelten die Pflanzen, von wenigen Ausnahmen abgesehen, zur Blütezeit und untersuchten getrennt Blüten, Kraut, Wurzeln und auch Samen.

2. Aufarbeitung der Pflanzen

Das Frischmaterial zerkleinerten wir nach den üblichen Vorschriften des DAB 6 und trockneten sie etwa 4-6 Stunden im Trockenschrank bei 75° C.

Nach der Methode von P. CASPARIS, P. SPRECHER und H. J. MÜLLER¹⁰⁵⁾ extrahierten wir 30-40 g grob gepulvertes Pflanzenmaterial im Soxhlet-Apparat bis zur Farblosigkeit mit Methanol. Wir destillierten darauf das Lösungsmittel ab, dampften den Extrakt bis zur Sirupdicke ein und unterwarfen ihn der Reinigung.

Den zähflüssigen grünen Rückstand digerierten wir mehrmals mit wenig heißem Wasser und kolierten den entstehenden wässrigen Extrakt durch Watte. Zur Abscheidung des restlichen Chlorophylls dampften wir den Extrakt in einer Porzellanschale auf dem Wasserbad ein und filtrierten noch heiß. Über Nacht schieden sich, im Kühlschrank belassen, meist noch braungüne Ballaststoffe ab. Nach nochmaliger Filtration war der wässrige Gesamtextrakt A klar. Mit etwas Äthylazetat überschichtet, verhindern wir Schimmelbildung.

105) P. CASPARIS, P. SPRECHER u. H. J. MÜLLER, Pharmac. Acta Helvetiae 21, 341 (1946).

*) Herrn Prof. Dr. L. Brauner, Direktor des Botanischen Instituts der Universität München, danken wir für die freundliche Überlassung des Pflanzenmaterials.

Zur Auftrennung der hydrophoben und hydrophilen Flavonoide schüttelten wir ein Drittel des wässrigen Gesamtextraktes A mit Äthylazetat aus. Gleichzeitig beseitigten wir dabei die bei der Papierchromatographie störenden Ballaststoffe. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels bis auf 20 ml erhielten wir die Äthylazetatfraktion B. Im wässrigen Rückstand, der Fraktion C, verblieben die hydrophilen Flavone. Nebeneinander chromatographierten wir nun im Lösungsmittelsystem Äthylazetat-Ameisensäure-Wasser (10+2+3) Gesamtextrakt A, Äthylazetatfraktion B (R_F -Bereich 0,4-1,0), wässrigen Rückstand C und, wo notwendig, Papiereluat D des Streifenchromatogramms (siehe Papierchromatographie).

3. Papierchromatographie

Mikromethode für die Papierchromatographie

Die Lösungsmittelgemische, auch die mit Wasser mischbaren, wurden vorher filtriert und sowohl zum Chromatographieren als auch zum Sättigen der Kammer benutzt.

Die Verwendbarkeit der Systeme erprobten wir zur Zeitersparnis im Mikrochromatographier-Glaszylinder (Höhe 20 cm, $\varnothing$ 8 cm). Das Lösungsmittel bedeckte einen halben cm den Boden. Der Papierstreifen wurde unten etwas ausgezackt, damit die Lösungsmittelfront über den Startpunkt hochsteigen konnte. An den quer zum oberen Rand des Zylinders doppelt gespannten Faden wurde mit Hilfe einer Klammer der Papierstreifen befestigt. Zum Abdichten der Kammer diente ein Gummiring, auf den ein Glasdeckel mit Hilfe einer Metallsperre aufgedrückt wurde.

Erfolgreiche Vorversuche dieser Art übertrugen wir dann auf normale Arbeitsbedingungen in der üblichen Großglaskammer.

Chromatographische Arbeitsmethoden

Unsere vielseitigen Erfahrungen haben gezeigt, daß das Arbeiten in Glaskammern mit Glasplatte*) genauere R_F -Werte aufwiesen, zumal bei Abdichtung mit einer Vaselineschicht die Dampf-atmosphäre des Lösungsmittelsystems fast keinen Schwankungen unterworfen war.

*) Von der Firma Dr. Bender u. Dr. Hobein, München, geliefert.

Für sämtliche Untersuchungen bewährte sich das Papier von Schleicher & Schüll 2043b Gl. Wir arbeiteten nach der absteigenden Methode, die den Vorzug der schnelleren Bewegung der Lösungsmittelfront hat.

Im Übersichtschromatogramm trugen wir den Extrakt jeder Pflanze in steigender Konzentration auf. Die Farbintensität der entwickelten Chromatogramme war ein Hinweis für die zu wählende Konzentration. Gleichzeitig konnten wir aus diesen Übersichtschromatogrammen den R_F -Bereich der vorhandenen Flavone ermitteln. Zum Vergleich wählten wir dann Testsubstanzen und fertigten somit die Leitchromatogramme an:

Mit einer 0,1 ml fassenden Mikropipette wurde die ausgewählte Konzentration der Lösungen 6 cm vom unteren Rand der Papierbogen in 3 cm Abstand punktförmig aufgetragen, und zwar so, daß 0,01-0,02 ml zum Chromatographieren ausreichten.

Das Durchlaufchromatogramm ermöglichte in den meisten Fällen in der oberen Laufhöhe eine Auftrennung, sofern es sich um zwei Flavone verschiedener Substitution handelte. Zum gleichmäßigen Abtropfen des Lösungsmittels zackten wir jeweils den unteren Rand des Papierbogens aus.

Die Streifenchromatogramme dienten einmal zur präparativen Trennung und Darstellung von reinen Substanzen, zum anderen zur Vorreinigung extraktreicher, wässriger Phasen. Dazu verwendeten wir stets gewaschene Papiere. Die Flavonlösung wurde dann strichförmig 6,5 cm vom unteren Rand entfernt auf den Papierbogen aufgetragen. Aus den fertigen Chromatogrammen eluierten wir die abgeschnittene bandförmige Flavonzone mit Methanol, konzentrierten die filtrierte Lösung und fertigten wiederum Leitchromatogramme an.

Zusammenstellung der verwendeten Lösungsmittelsysteme

Für die papierchromatographischen Vergleiche wurden folgende Lösungsmittelsysteme verwendet. Die angegebenen Zahlenverhältnisse stellen stets Raumteile dar.

a) Äthylazetat-Ameisensäure-Wasser = 10+2+3;

verwendet wurde die Oberphase;

Laufzeit: 6-8 Stunden;

Sättigung der Kammer mit der wässerigen Unterphase;

Anwendungsgebiet: Trennung von Glykosiden.

b) n-Butanol-Eisessig-Wasser = 4+1+5;

verwendet wurde die Oberphase;

Laufzeit: 20-22 Stunden;

Sättigung der Kammer mit der wässerigen Unterphase;

Anwendungsgebiet: Trennung von Glykosiden hydrophober Natur.

c) Eisessig-Wasser = 6+4;

System mischbar;

Laufzeit: etwa 24 Stunden;

Sättigung der Kammer mit dem System;

Anwendungsgebiet: Trennung von Aglykonen.

d) Nitromethan-Benzol-Eisessig-Wasser = 5+10+10+20;

verwendet wurde die wässerige Unterphase;

Laufzeit: etwa 20 Stunden;

Sättigung der Kammer mit der Unterphase;

Anwendungsgebiet: Trennung von hydrophoben Aglykonen.

e) Isopropanol-Ameisensäure-Wasser = 2+5+5;

System mischbar;

Laufzeit: 10-12 Stunden;

Sättigung der Kammer mit dem Gemisch;

Anwendungsgebiet: Trennung von Aglykonen.

f) n-Butanol-Methanol-Wasser = 4+1+5;

verwendet wurde die Oberphase;

Laufzeit: 34-36 Stunden;

Sättigung der Kammer mit der Oberphase;

Anwendungsgebiet: Unterscheidung von Hesperidin und Diosmin.

g) n-Butanol-Azeton-Wasser = 4+1+5;

verwendet wurde die Oberphase;

Laufzeit: 36 Stunden;

Sättigung der Kammer mit der Oberphase;

Anwendungsgebiet: Unterscheidung von Hesperidin und Diosmin.

h) n-Butanol-(Methanol, Isopropanol, Äthylazetat, Azeton)-
Wasser = 4+(2)+4;

verwendet wurde die Oberphase;

Laufzeit: 34-36 Stunden;

Sättigung der Kammer mit der Oberphase;

Anwendungsgebiet: Unterscheidung von Hesperidin und Diosmin

i) Pyridin-Äthylazetat-Wasser = 1+2+2;

verwendet wurde die Oberphase;

Laufzeit: 12 Stunden;

es wurde nur aufsteigend gearbeitet;

Anwendungsgebiet: Trennung von Zuckern.

4. Hydrolyse:

a) Hydrolyse der Extrakte

Die Wahl und die Stärke der Säure war in jedem Fall verschieden. Bei den Quercetin- und Luteolinglykosiden genügten im allgemeinen 5% Schwefelsäure, während bei den Apiin, Scutellarin und Diosmin führenden Extrakten eine Konzentration von 30-40% Schwefelsäure oder 10-25% Salzsäure notwendig war. Zu 5 ml wässrigem Gesamtextrakt fügten wir so viel Schwefel- oder Salzsäure zu, daß die Gesamtmenge 5% - 40% ausmachte. Im Rückfluß erhitzen wir auf dem Wasserbad fast ausschließlich 8-10 Stunden, bei Diosmin-enthaltenden Extrakten sogar bis 15 Stunden. Zwischendurch kontrollierten wir papierchromatographisch den Fortgang der Hydrolyse.

Nach dem Abkühlen des Hydrolysates schüttelten wir mit Äther und anschließend mit einer Mischung gleicher Teile Äther und Äthylazetat aus. Die oft gebildeten Niederschläge des

Hydrolysates trennten wir vorher nicht ab, da die Ballaststoffe adsorptiv Flavone festhielten, die dann beim Ausschütteln teilweise noch in Lösung gingen.

4-5 Ausschüttelungsvorgänge genügten normalerweise. Nach Vereinigung der einzelnen Fraktionen schüttelten wir mit Wasser so lange aus, bis die wässrige Phase klar und gegen Universal-Indikatorpapier, Merck, fast neutral war ($p_H = 5-6$). Wir engten die Fraktionen auf wenige ml ein und chromatographierten abwechselnd mit Testsubstanzen.

β) Hydrolysenversuche reiner Glykoside

- a) Mit 30%iger Schwefelsäure erhitzen wir das Scutellarin im Rückfluß bei etwa $80^{\circ} C$ auf dem Wasserbad für 10 Stunden. Nach dem Ausfällen des Aglykons durch Zugabe von Wasser nutschten wir ab, wuschen mit Wasser nach und prüften papierchromatographisch im Isopropanol-Ameisensäure-Wasser-Gemisch (2+5+5). Das Ergebnis zeigte noch wenig Scutellarin neben Scutellarein.
- b) Nach G. GOLDSCHMIEDT und E. ZERNER¹⁰⁶⁾ versuchten wir auch die kalte Hydrolyse mit konzentrierter Schwefelsäure. Wir rieben 20 mg Scutellarin mit so viel Säure an, daß sich die Substanz mit tiefgelber Farbe löste und ließen die Lösung etwa 1/2 Stunde lang stehen. Danach gossen wir die Lösung in viel kaltes Wasser, wobei ein gelber, flockiger Niederschlag ausfiel. Wir nutschten ab, spülten mit Wasser nach und trockneten bei $100^{\circ} C$. Die in Methanol gelöste Substanz zeigte gleichfalls wenig Scutellarin neben dem Aglykon Scutellarein.
- c) Ein gutes Ergebnis brachte die 10stündige Hydrolyse mit 35%iger Schwefelsäure oder 25%iger Salzsäure unter jeweiliger Zugabe mehrerer Tropfen Essigsäure.
- d) Bei der nach L. ZIMMERMANN¹⁰⁷⁾ durchgeführten Hydrolyse

106) G. GOLDSCHMIEDT u. E. ZERNER, Mh. Chem. 31, 477 (1910).

107) L. ZIMMERMANN, J. chem. Soc. (London) 632 (1956).

mit Äthylenglykol war die Ausbeute sehr gering.

50 mg Scutellarin und 1 ml Äthylenglykol wurden mit 0,5 ml Schwefelsäure 40 Minuten auf dem Wasserbad im Rückfluß erhitzt. Die klare gelbe Lösung wurde in 2 ml Wasser geschüttelt. Den Rückstand sammelten wir und kristallisierten aus Äthanol um.

- e) Hydrolyse nach C. CHARAUX, J. RABATÉ¹⁰⁸⁾ und C. A. MARSH¹⁰⁹⁾: 35 mg des Kristallisates wurden mit einer Mischung aus 3 ml 10%iger Schwefelsäure und 3 ml Essigsäure angerieben und 14-15 Stunden im Rückflußkühler erhitzt. Das Glykosid ging langsam in Lösung. Nach Zugabe von 6 ml Wasser zur filtrierten Lösung fiel das Aglykon aus. Durch dreimaliges Ausschüteln mit wenig Äther, wuschen wir die Ätherlösung einige Male mit Wasser und trockneten anschließend mit entwässertem Natriumsulfat. Nach Abdestillieren des Äthers wurde der Rückstand aus 80%igem Äthanol umkristallisiert.

5. Farbteste und chemische Reaktionen

Entwicklung der Chromatogramme:

Bei Betrachtung der unbesprühten Chromatogramme unter dem UV-Licht zeigten sich Flavone und Flavonol-3-Glykoside als braune oder dunkle Flecke, während Flavonole (mit freier C_3OH -Gruppe) intensiv gelb leuchteten.

Zuerst besprühten wir die Chromatogramme mit einer 2%igen wässrigen Aluminiumsulfatlösung, die nach dem Trocknen die Fluoreszenzfarben der Flavone und Flavonol-3-glykoside unter der Analysenquarzlampe intensiv gelb, die der Flavonole gelbgrün erkennen ließ (C_3 -Komplexbildung).

Mit basischer Bleiazetatlösung entstand bei orthoständigen C_3 ,- C_4 ,-Dihydroxy-Gruppen des Seitenphenyls ein Bleikomplex, der unter dem UV-Licht orangefarben leuchtete.

108) C. CHARAUX u. J. RABATÉ, J. Pharmac. Chim. 9, 401 (1940).

109) C. A. MARSH, Biochem. J. 59, 58 (1955).

Baryt-Sprühtest

Parallele Komplexverhältnisse beobachteten wir beim Scutellarin und Scutellarein (C_5 -, C_6 -, C_7 -Trihydroxy-Gruppen). Die Chromatogrammflecke färbten sich bei Tageslicht durch leichtes Aufsprühen mit Barytwasser (DAB 6) anfangs etwas gelblich über dunkelgelb und dann sofort grün. Unter dem UV-Licht fluoreszierten sie tiefgrün.

Tauböck-Test¹¹⁰⁾¹¹¹⁾¹¹²⁾

Von den Ausschüttelungen der einzelnen Fraktionen dampften wir in einem Porzellanschälchen einige ml auf dem Wasserbad zur Trockene ein und lösten den verbleibenden Rückstand in ca. 5 ml Azeton. Nach Zusatz von wenigen mg gleicher Teile Bor- und Oxalsäure brachten wir die Lösung abermals zur Trockene. Der in Äther aufgenommene Rückstand färbte sich am Tageslicht bei Anwesenheit der 4-Keto-5-Oxy-Gruppe oder 4-Keto-3-Oxy-Gruppe¹¹²⁾ im Molekül eines Flavonoides gelb, während unter dem UV-Licht nur die ätherische Lösung der 4-Keto-3-Oxy-Gruppierung im Flavonmolekül intensiv grün fluoreszierte.

Reduktionstest¹¹³⁾¹¹⁴⁾

Einige mg Substanz wurden in 3 ml Methanol gelöst und auf 5 ml mit Wasser in einem Reagenzglas aufgefüllt. Nach Zugabe von etwas Magnesiumpulver kühlten wir das Glas in kaltem Wasser und setzten unter leichtem Schütteln portionsweise insgesamt 2 ml Salzsäure zu, damit während der Reduktion die Wasserstoffentwicklung langsam vonstatten ging.

6. Spektroskopische Messungen

a) UV-Spektren im Natriumazetat-Milieu

Wir lösten die Flavone in der zur Messung mit 1 cm Schichtdicke geeigneten Konzentration (etwa 0,05-0,08 mg/100 ml) in

-
- 110) K. TAUBÖCK, Naturwissenschaften 30, 439 (1942).
111) C. W. WILSON, J. Amer. chem. Soc. 61, 2303 (1939).
112) L. HÖRHAMMER u. R. HÄNSEL, Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. 286/58, 447 (1953).
113) R. WILLSTÄTTER u. H. MALLISON, S. B. preuß. Akad. Wiss., physik.-math. Kl. 769 (1914).
114) L. HÖRHAMMER u. K. H. MÜLLER, Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. 287/59, 376 (1954).

absolutem Alkohol. Die mit einem Überschuß an frisch getrocknetem Natriumazetat versetzte Lösung schüttelten wir 5 Minuten von ungelöstem Natriumazetat ab und prüften sofort die Lichtabsorption im Zeiss-Opton M 4 Qu.

b) UV-Spektren in Aluminiumchloridlösung

Zu 3-5 ml der unter a) angefertigten Flavonstammlösung setzten wir 1 ml einer 10^{-2} mol. Aluminiumchloridlösung (in absolutem Alkohol) zu und nahmen sofort die UV-Spektren auf.

c) UV-Spektren in Natriumazetat- und Aluminiumchlorid-Lösung

Zu dem unter a) erhaltenen Filtrat fügten wir noch 1 ml der 10^{-2} mol. Aluminiumchloridlösung zu und spektrographierten.

d) Infrarotspektroskopische Untersuchungen

Aufnahme der Spektren:

Die Substanzen Scutellarin aus den verschiedenen Arten wurden genau gewogen (350-1200 γ), mit Kaliumbromid gemischt und in Form von Preßlingen im Perkin-Elmer-Infrarotspektrophotometer Nr. 21 spektroskopiert. Die Aufnahme einiger Substanzen in Paraffin läßt ungefähre Aussagen über die Anzahl der Hydroxylgruppen zu. Wir bevorzugten aber das Kaliumbromid-Verfahren, da die Auflösung der Spektren in den übrigen Bereichen der in Paraffin überlegen ist.

B. Isolierungen

1. Nachisolierung von Scutellarin aus dem Kraut von Scutellaria altissima in der Modifizierung der Methode nach G. GOLDSCHMIEDT¹¹⁵⁾

α) Isolierungsgang

In Angleichung an die Methode von G. GOLDSCHMIEDT¹¹⁵⁾, welche die Gewinnung von Scutellarin durch Extraktion mit kochendem Wasser und anschließender Zugabe von 1-2% Salzsäure

115) G. GOLDSCHMIEDT, S.-B. Akad. Wiss. Wien 110 (1901).

vorsieht, sind wir zur schnelleren und sichereren Modifikation übergegangen, indem wir das bei 75° C frischgetrocknete Pflanzenmaterial fein pulverten und mit Methanol im Soxhlet-Apparat erschöpfend extrahierten. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels digerierten wir 5-6mal den dunkelgrünen, dünnflüssigen Rückstand mit je 100.0 kochendem Wasser und engten im Vakuum auf etwa die Hälfte des Volumens ein. Die noch heiße Lösung versetzten wir mit soviel Salzsäure, daß die Säurekonzentration der Lösung 1% ausmachte. Zur schnelleren Abscheidung des Scutellarins schüttelten wir mit 10-20 ml Äthylazetat durch. Nach einer Stunde schied sich das Scutellarin quantitativ ab. Wir filtrierten den gelblichen Rückstand und trockneten ihn bei 100° C. Alsdann extrahierten wir ihn, fein verrieben, im Soxhlet-Apparat erschöpfend mit Methanol. Die gelbe Lösung engten wir auf die Hälfte ein. Nach einiger Zeit kristallisierte das Scutellarin in gelben Nadelchen aus. Durch oftmaliges Umkristallisieren aus Methanol und Äthanol unter Zugabe von etwas Wasser erhielten wir ein reines Produkt. Wir nutschten ab, wuschen mit wenig Alkohol und dann mit wenig Wasser nach und trockneten bei 100° C im Trockenschrank.

β) Identifizierung

a) Schmelzpunkt:

Die Schmelzpunkte wurden auf dem Kofler-Heizblock ausgeführt.

b) Azetylierung des Scutellarins:

Ein Teil Scutellarin wurde mit einem Teil wasserfreiem Natriumazetat und 20 Teilen Essigsäureanhydrid auf dem Wasserbade etwa 3 Stunden lang auf 70-80° C erwärmt und nach dem Erkalten in Wasser gegossen. Das allmählich kristallinisch erstarrte, weiße Reaktionsprodukt saugten wir ab und kochten nacheinander mit absolutem Alkohol und wenig Essigäther aus. Die zurückbleibende Substanz wurde aus etwas verdünntem Eisessig umkristallisiert.

c) Nachweis des Zuckeranteils:

TOLLENS'sche Naphthoresorcinprobe¹¹⁶⁾¹¹⁷⁾:

Beim Erwärmen mit etwas Naphthoresorcin oder naphthoresor-cincarbonsaurem Barium und 1 ml Salzsäure lieferte die schwefel-saure Lösung der Hydrolyse, mit etwas Äthanol versetzt, einen Niederschlag, der sich einerseits in Alkohol blau färbte und andererseits mit Benzol ausgeschüttelt sich mit rot-violetter Farbe löste. Ein Vergleich mit reiner Glukuronsäure brachte die gleichen Ergebnisse.

Prüfung mit α -Naphthollösung¹¹⁸⁾:

Einige ml der Hydrolysenlösung wurden mit 2 Tropfen einer alkoholischen α -Naphthollösung versetzt und mit 2-3 ml konzen-trierter Schwefelsäure unterschichtet. So entstand an der Be-rührungsfläche ein oben braunroter, unten blaugrünen Ring und beim Umschütteln wurde die ganze Flüssigkeit smaragdgrün ge-färbt.

d) Glukuronsäurephenylosazon¹¹⁹⁾

Die schwefelsaure Hydrolysenlösung wurde mit Bariumcarbo-nat neutralisiert, filtriert und unter vermindertem Druck bei 40° C eingedampft. Nach nochmaliger Filtration wurde mit 2 ml 50%iger Essigsäure und 0,8 g Phenylhydrazin versetzt und im Rückfluß auf dem Wasserbad erwärmt. Nach etwa 10 Minuten schie-den sich orange-gelbe Kristalle ab, die nach 20 Minuten abge-saugt, mit wenig warmem Wasser und absolutem Alkohol gewaschen und bei 100° C getrocknet wurden.

2. Isolierung von Scutellarin aus dem Kraut von Scutellaria
canascens

Isolierungsgang:

In gleicher Weise wie bei Scutellaria altissima (siehe

116) A. NEUBERG u. Y. SANEYOSHI, Biochem. Z. 36, 56 (1911).

117) Y. ASAHINA, J. pharmac. Soc. Japan 484, (1919).

118) G. GOLDSCHMIEDT u. E. ZERNER, Mh. Chem. 31, 485 (1910).

119) G. GOLDSCHMIEDT u. E. ZERNER, Mh. Chem. 31, 477 (1910).

unter B 1, S. 48) wurde das Rohprodukt des Scutellarins isoliert. Der Substanz hafteten Farb- und Gerbstoffe hartnäckig an. Deshalb extrahierten wir die gepulverte, trockene Substanz in der Hülse im Soxhlet-Apparat. Nach Abdestillieren des Methanols trockneten wir den Rückstand und wiederholten mehrere Male diesen Extraktionsvorgang, bis die Substanz etwas hellere Farbe zeigte. Zur weiteren Reinigung bedurfte es einer 12-15maligen Umkristallisation aus 70%igem Methanol bzw. Äthanol. Das hellgelbe Kristallisat wurde abgenutscht, mit Wasser und Methanol gewaschen und bei 100° C getrocknet. Unter dem Mikroskop waren feine Nadelchen zu erkennen.

3. Isolierung von Scutellarin aus verschiedenen Arten

Die Isolierung von Scutellarin nach der bei Scutellaria altissima (siehe unter B 1, S. 48) beschriebenen Methode wurde bei folgenden Arten durchgeführt:

1. Scutellaria alpina L.
2. Scutellaria Orientalis L.
3. Galeopsis Tetrahit L.
4. Galeopsis ochroleuca Lam.

4. Isolierung von Diosmin enthaltenen Mischkristallisaten folgender Mentha-Arten:

Mentha longifolia,
Mentha piperita und
Mentha rotundifolia.

α) Isolierungsgang

200 g lufttrockene Droge wurde feingepulvert und im Soxhlet-Apparat 2-3 Tage mit Methanol extrahiert. Nach Abdestillieren des Alkohols wurde der verbleibende, dickflüssige, grüne Rückstand 5-6mal mit etwa 100 ml kochendem Wasser ausgezogen und über Watte kolliert. Wir engten den wässerigen Extrakt im Vakuum auf etwa das halbe Volumen ein, filtrierten und versetzten dann die Flüssigkeit mit soviel Salzsäure, daß die Gesamtmenge

1% davon enthielt. Nach 10-14 Tagen schied sich ein weißlich-gelber Niederschlag ab, der sich noch vermehrte, als mit etwas Äthylazetat durchgeschüttelt wurde. Spuren von Chlorophyll entfernten wir durch Zugabe von Chloroform. Öfteres Umkristallisieren aus Methanol und Äthanol ergab ein fast weißes Produkt. Wir nutschten den Rückstand ab, wuschen mit Wasser und Methanol und trockneten bei 100° C.

β) Identifizierung

a) Schmelzpunkt:

Die Schmelzpunkte wurden auf dem Kofler-Heizblock angefertigt.

b) Papierchromatographie:

Die Aglykonlösungen wurden mit authentischem Diosmetin und Luteolin in 3 Lösungsmittelsystemen chromatographiert und zeigten übereinstimmende R_F -Werte und Farbreaktionen.

5. Isolierung von Chrysin aus Gemmae populi, Erg.B.z.DAB 6

400 g getrocknete, zerquetschte Pappelknospen wurden im Soxhlet-Apparat mit Methanol extrahiert, filtriert und bei 70° C mit 48 g Bleiazetat versetzt. Am nächsten Tag filtrierten wir den gelblichbraunen, schlammigen Niederschlag ab, fällten durch Einleiten von Schwefelwasserstoff das Blei aus, filtrierten und destillierten den Alkohol ab. Das ausgeschiedene Harz lösten wir nach Abtrennung der überstehenden essigsäuren wässrigen Flüssigkeit in heißem Alkohol. Das nach etwa 6-8 Tagen ausgeschiedene gelbkristalline Chrysin behandelten wir zur weiteren Beseitigung der Fette, Harze und des Schwefels mit wenig siedendem absolutem Äthanol, dann mit Äther und schließlich mit Schwefelkohlenstoff. Mit kochendem Wasser entzogen wir dem Rohprodukt Salicin und Populin. Siedendes Benzin löste das Tectochrysin nicht heraus. Wir brachten dann die Substanz durch Schmelzen auf 275° C, wobei einige Verunreinigungen verkohlten, lösten in Alkohol und versetzten wiederum mit Bleiazetatlösung

zur Fällung der fremden Farbstoffe. Nach Filtration des flockigen Niederschlags entfernten wir mit Schwefelwasserstoff die Bleiionen und kristallisierten die Substanz mehrmals aus Äthanol um.

Zwischendurch prüften wir papierchromatographisch die Reinheit der Substanz. Es war neben dem Chrysin (gelb) noch das Tectochrysin (dunkel) zu erkennen, welches aus dem Kristallisat auch mit heißem Chloroform nicht zu entfernen war.

Ausbeute: 0,8 g.

A n h a n g

Tabelle 7

In folgender Tabelle sind die Farbreaktionen der Chromatogramme einiger 5-7-Dihydroxy-flavone (flavanone) mit Barytwasser wiedergegeben.

Substanz	Formel	besprüht m. Barytwasser	
		am Tageslicht	unter UV-L.
<u>Aglykone:</u>			
Chrysin	5,7-Dioxyflavon	gelb	gelb
Wogonin	5,7-Dioxy-8-methoxyfl.	gelb	gelb
Apigenin	5,7,4'-Trioxyfl.	gelb	gelb
Luteolin	5,7,3',4'-Tetraoxyfl.	gelb	gelb
Scutellarein	5,6,7,4'-Tetraoxyfl.	<u>grün</u>	<u>grün</u>
Diosmetin	5,7,3'-Trioxy-4'-methoxyflavon	gelb	gelbbraun
Hesperetin	5,7,3'-Trioxy-4'-methoxyflavanon	gelb	gelbgrün
Kämpferol	3,5,7,4'-Tetraoxyflavon	gelb	gelb
Quercetin	3,5,7,3',4'-Pentaoxyflavon	gelb	gelb
Myricetin	3,5,7,3',4',5'-Hexaoxyflavon	gelb	gelb
<u>Glykoside:</u>			
Apinin	5,7,4'-Trioxyflavon-7-apioseglykosid	gelb	gelb
Scutellarin	5,6,7,4'-Tetraoxyflavon-7-glukuronid	<u>grün</u>	<u>grün</u>
Diosmin	5,7,3'-Trioxy-4'-methoxyflavon-7-rhamnoglykosid	gelb	gelb
Hesperidin	5,7,3'-Trioxy-4'-methoxyflavanon-7-rhamnoglykosid	gelb	gelbgrün

Tabelle 8

Farbreaktionen einiger Flavone in Kristallform mit Barytwasser

B a r y t w a s s e r	
Flavone	in Kristallform
Scutellarin	goldgelb-orange-rot-smaragdgrün
Scutellarein	rot-grün-smaragdgrün
Luteolin	goldgelb-orange-rot-undeutlich.grün
Quercetin	goldgelb-orange-rot-grün
Diosmetin	gelb
Hesperetin	blaßgelb
Chrysin	gelb
Kämpferol	goldgelb
Apigenin	gelb
Fisetin	rot-undeutl.dunkel

Tabelle 9

Untersuchte Lösungsmittelsysteme zur
Unterscheidung von Hesperidin und Diosmin.

Erklärungen:

- + eine gute Unterscheidung möglich
- x keine gute Unterscheidung möglich
- eine Unterscheidung nicht möglich
- U verwendet wurde die Unterphase
des Lösungsmittelsystems
- O verwendet wurde die Oberphase
des Lösungsmittelsystems
- m das System ist mischbar

Brauch- barkeit	S y s t e m	Verhältnis	Phase
+	Butanol-Wasser	1+1	O
x	Butanol-Eisessig-Wasser	4+1+5	O
+	Butanol-Methanol-Wasser	4+1+5	O
-			U
x	Butanol-Methanol-Wasser	4+2+4	m
x	Butanol-Isopropanol-Wasser	4+1+5	O
x	Butanol-Äthanol-Wasser	4+1+5	O
+	Butanol-Aceton-Wasser	4+1+5	O
-			U
x	Butanol-Aceton-Wasser	4+4+2	m
x	Butanol-Aceton-Methanol- Wasser	4+1+1+4	m
x	Butanol-Aceton-Isopropanol- Wasser	4+1+1+4	m
x		4+2+2+4	m
x	Butanol-Aceton-Isopropanol- Methanol-Wasser	4+2+2+2+4	m
-	Butanol-Aceton-Isopropanol- Methanol-Anilin-Wasser	4+2+2+2+1+4	m

Brauch- barkeit	S y s t e m	Verhältnis	Phase
-	Butanol-Aceton-Isopropanol-Methanol-Benzol-Wasser	4+2+2+2+0,5+4	m
-	Butanol-Aceton-Isopropanol-Methanol-Pyridin-Wasser	4+2+2+2+0,5+5	m
x	Butanol-Aceton-Isopropanol-Methanol-Chloroform-Wasser	4+2+2+2+1+4	m
-	Butanol-Aceton-Isopropanol-Chloroform-Wasser	4+2+2+1+4	m
+	Butanol-(Aceton-Isopropanol, Methanol, Essigester)-Wasser	4+(2)+4	m
+	Butanol-(Isopropanol, Methanol, Essigester)-Wasser	4+(1)+5	O
x	Butanol-Isopropanol-Wasser	4+2+4	m
x		2+4+4	m
x	Butanol-Isopropanol-Benzol-Wasser	2+4+1+3	O
x	Butanol-Isopropanol-Methanol-Benzol-Wasser	4+1+2+0,5+4	m
-	Butanol-Aceton-Methanol-Wasser	2+1+1+5	m
+	Butanol-Essigester-Wasser	4+1+5	O
-			U
x	Butanol-Essigester-Aceton-Wasser	4+1+1+4	O
-	Butanol-Methanol-Chloroform-Wasser	4+1+1+4	O
-	Butanol-Chloroform-Wasser	4+1+5	O
-	Butanol-Benzol-Wasser	4+1+5	O
x	Butanol-Benzol-Methanol-Nitromethan-Wasser	4+1+1+1+3	O
x			U
-	Butanol-Picolin-Aceton-Methanol-Wasser	2+0,1+1+1+2	m
-	Butanol-Pyridin-Aceton-Methanol-Wasser	4+0,1+1+1+5	m
-	Butanol-Methanol-Isopropanol-Anilin-Wasser	4+2+1+0,5+2,5	m
-	Butanol-Isopropanol-Wasser	5+2+3	m
x	Aceton-Wasser	8+2	m

Brauch- barkeit	S y s t e m	Verhältnis	Phase
-	Benzol-Pyridin-Wasser	10+0,1+10	O
-	Chloroform-Wasser	1+1	O
-			U
-	Essigester-Wasser	1+1	O
-			U
x	Isopropanol-Anilin-Wasser	4+1+5	m
x	Isopropanol-Butanol-Wasser	4+1+5	m
-		4+2+4	m
-	Isopropanol-Aceton-Butanol- Wasser	4+1+1+4	m
-		4+2+2+4	m
-	Isopropanol-Aceton-Benzol- Wasser	4+1+1+4	m
-	Isopropanol-Wasser	22+78	m
-	Phenol-Wasser	1+1	O

Tabelle 10

Lösungs- mittel- system	R f - W e r t e							
	Aglykon 1		Aglykon 2		Aglykon 3		Vergleichssubstanzen	
	a	b	a	b	a	b	Diosmetin	Luteolin
E-W* = 6+4	0.63	0.50	0.62	0.50	0.62	0.50	0.62	0.50
I-A-W=2+5+5	0.48	0.40	0.48	0.40	0.48	0.40	0.48	0.40
N-B-E-W = 5+10+10+20	0.35	0.28	0.35	0.28	0.35	0.28	0.35	0.28

*) Erklärungen sind auf Seite 27 angegeben.

Tabelle 11

Aglykone	unbesprüht	Fluoreszenz unter der UV-Lampe		
		besprüht mit		
		Alumin. sulfat	bas.Blei- azetat.	Barytwasser
a	dunkel	gelb	braun	gelbbraun
b	dunkel	gelb	orange	gelb
Zum Vergleich:				
Diosmetin	dunkel	gelb	braun	gelbbraun
Luteolin	dunkel	gelb	orange	gelb

Tabelle 12

Ergebnisse der systematischen Untersuchungen der Aglykone nach Hydrolyse der wässrigen Pflanzenauszüge.

Die Chromatographie erfolgte in drei Lösungsmittelsystemen:

- | | |
|---------------------------------------|--------------|
| 1. Eisessig-Wasser | = 6+4 |
| 2. Isopropanol-Ameisensäure-Wasser | = 2+5+5 |
| 3. Nitromethan-Benzol-Eisessig-Wasser | = 5+10+10+20 |

Erklärungen der Abkürzungen:

Kr	= Kraut
Bl	= Blüten
S	= Samen

Q	= Quercetin
K	= Kämpferol
S	= Scutellarein
L	= Luteolin
A	= Apigenin

+ das betreffende Aglykon ist vorhanden

(+) das betreffende Aglykon tritt nur schwach auf

Name	Standort	Sammelzeit	Aglykone					
			Q	K	S	L	A	
Dracocephalum Ibericum Bieb.	Botanischer Garten	Anfang August						+
Galeopsis ochroleuca Lam.	Bechhofen/Mfr.	Mitte Juli			+			
Galeopsis Tetrahit L.	Bechhofen/Mfr.	Mitte August			+			+
Glechoma hederaceum L.	Botanischer Garten	Anfang August	(+)		+			
Hyptis capitata	Botanischer Garten	Ende Juli		+				
Hysopus officinalis L.	Bechhofen/Mfr.	Mitte August						+
Lamium album L.	Bechhofen/Mfr.	Ende Mai		+				
				+				
Lamium maculatum L.	Botanischer Garten	Anfang Juni	(+)					
Lamium purpureum L.	Feuchtwangen	Mitte Mai	(+)					
			(+)					+
Lavandula Spica L.	Botanischer Garten	Mitte August						+
								+
								+

Name	Standort	Sammelzeit	A g l y k o n e					
			Q	K	S	L	A	
<i>Lavandula vera</i> DC.	Botanischer Garten	Mitte August	Kr			+		
<i>Lycopus Europeus</i> L.	Bechhofen/Mfr.	Mitte August	Bl			+		
<i>Lycopus exaltatus</i> L.	Karlsruhe-Durlach Fa. Schwabe	September	Kr			+		
<i>Lycopus Virginicus</i> L.	Karlsruhe-Durlach Fa. Schwabe	September	S			+		
<i>Marrubium vulgare</i> L.	Botanischer Garten	Anfang August	Kr			+		
<i>Melissa officinalis</i> L.	Botanischer Garten	Mitte August	Kr			(+)		
<i>Mentha spicata</i> , var. <i>crispata</i> Schrader	Botanischer Garten	Mitte August	Kr			+		+
<i>Mentha aquatica</i> L.	Feuchtwangen	Ende Juli	Kr			+		+
<i>Mentha Dossiniána</i> Hegi	Altmühlgrund	Anfang September	Bl			+		+
<i>Mentha piperita</i> L.	Botanischer Garten	Anfang August	Kr			+		+
<i>Mentha piperita</i> L. (L.)	Grosmandel Caesar & Loretz/Michelstadt		Kr			+		+
<i>Mentha longifolia</i> Hudson	Altmühlgrund	Mitte August	Kr			+		+
			Bl			+		

Name	Standort	Sammelzeit	Kr	A g l y k o n e				
				Q	K	S	L	A
Mentha folia (L.) Hudson	Altmühlgrund	Mitte August	Kr				+	
Mentha pulegioides Schott	Botanischer Garten	Mitte August	Kr				+	+
Orthocentrus Benth.	Botanischer Garten	Ende August	Kr	+	+			
Plectrocarpum Maxim.	Botanischer Garten	Ende August	Kr	+				
	Botanischer Garten	Ende August	Kr	+				
	Botanischer Garten	Ende August	Bl	+				
Prunella grandiflora Jacq.	Botanischer Garten	Mitte August	Kr	+				
Prunella hastataefolia Brot.	Botanischer Garten	Ende Juli	Kr	+				
Prunella vulgaris L.	Beckhofen/Mfr.	September	Kr	+				
Rosmarinus officinalis L.	Botanischer Garten	Mitte August	Kr				+	
Salvia coccinea L.	Botanischer Garten	Anfang August	Kr				+	
Salvia Héerii R.	Botanischer Garten	Anfang August	Kr				+	+
Salvia officinalis L.	Beckhofen/Mfr.	Ende Juli	Kr				+	+
Salvia patens Cav.	Botanischer Garten	Mitte August	Kr				+	+
Salvia Sclarea L.	Botanischer Garten	Anfang September	Kr				+	
	Botanischer Garten	Ende August	Bl				+	+
Salvia splendens Sellow	Botanischer Garten	Ende August	Kr				+	
Satureja hortensis L.	Botanischer Garten	Mitte August	Kr				+	

Name	Standort	Sammelzeit	A g l y k o n e					
			Q	K	S	L	A	
Satureja montana L.	Botanischer Garten	Mitte August	Kr			+		
Satureja subspicata Vis.	Botanischer Garten	Ende August	Kr			+		+
Satureja vulgaris(L.)Fritsch	Herrieden/Mfr.	Anfang September	Kr					+
Scutellaria altissima L.	Botanischer Garten	Mitte September	Kr		+			
			Bl		+			
Scutellaria alpina L.	Botanischer Garten	Anfang Oktober	Kr		+			+
			Bl			+		
Scutellaria baicalensis Georgi	Botanischer Garten	Anfang September	Kr		+			+
			Bl		+			
Scutellaria canascens L.	Botanischer Garten	Anfang Oktober	Kr		+			
			Bl		+			
Scutellaria Orientalis L.	Botanischer Garten	Anfang Oktober	Kr		+			
			Bl					
Stachys Betonica Benth.	Umgebung Ansbach	Anfang September	Kr			+		+
Stachys Germanicus L.	Botanischer Garten	Mitte August	Kr			+		+
Stachys Paluster L.	Umgebung Ansbach	Anfang September	Kr			+		
Stachys seliverus L.	Botanischer Garten	Mitte August	Kr			+		+

Name	Standort	Sammelzeit		Analyse				
				Q	K	S	L	A
<i>Stachys silvatica</i> L.	Dinkelsbühl	Ende August	Kr				+	
<i>Teucrium chamaedrys</i> L.	Memmingen/Allgäu	Anfang Mai	Kr				+	
<i>Teucrium chamaedrys</i> L.	Feuchtwangen	Ende April	Bl				+	+
<i>Teucrium chamaedrys</i> L.	Botanischer Garten	Mitte Mai	Kr				+	+
<i>Teucrium scorodonia</i> L.	Botanischer Garten	Mitte August	Bl				+	+
<i>Thymus cinerascens</i> L.	Botanischer Garten	Mitte August	Bl				+	
<i>Thymus chamaedrys</i> Fries	Feuchtwangen	Ende August	Kr				+	+
<i>Thymus hirsutus</i> M.B.	Botanischer Garten	Anfang August	Kr				+	(+)
<i>Thymus lanuginosus</i> Mill.	Feuchtwangen	Ende August	Kr				(+)	
<i>Thymus serpyllum</i> L.	Umgebung Ansbach	Mitte September	Kr				+	+
<i>Thymus serpyllum</i> L.	Umgebung Memmingen	Ende August	Kr				+	+
<i>Thymus serpyllum</i> L.	Handelsdroge		Bl				+	
<i>Thymus serpyllum</i> L.			Kr				+	+

Name	Standort	Sammelzeit		Aglykone				
				Q	K	S	L	A
Thymus vulgaris L.	Feuchtwangen	Ende August	Kr				+	+
Thymus vulgaris L.	Illergeb./Memmingen	Mitte Juli	Kr				+	+
Thymus vulgaris L.	Handelsdroge		Kr				+	+

Tabelle 13

Diosmin-führende Arten

Name	Standort	Sammelzeit
Hyssopus officinalis L.	Bechhofen/Mfr.	Mitte August
Mentha Dossiniána Hegi	Altmühlgrund	Anfang September
Mentha longifolia(L.)Hds.	Altmühlgrund	Mitte August
Mentha piperita L.	Botanischer Garten	Anfang August
Mentha Pulegium L.	Dinkelsbühl	Mitte September
Mentha rotundifolia(L.)Hds.	Altmühlgrund	Ende August
Mentha spicata, var. crispáta Schrader	Botanischer Garten	Mitte August
Rosmarinus officinalis L.	Botanischer Garten	Mitte August
Satureja hortensis L.	Botanischer Garten	Mitte August

Tabelle 14

In folgender Tabelle sind die Farbreaktionen der untersuchten Aglykone wiedergegeben.

Aglykon	Fluoreszenz unter der UV-Lampe			Vergleichs- substanz
	unbesprüht	besprüht mit		
		Aluminium- sulfat	basisches Bleiacetat	
Q	gelb	grüngelb	orange	Quercetin
K	gelb	grüngelb	grüngelb	Kämpferol
L	dunkel	gelb	orange	Luteolin
S	dunkel	dunkel	grün	Scutellarein
A	dunkel	gelb	grüngelb	Apigenin
Im Vergleich dazu:				
	gelb	grüngelb	gelb	Rhamnazin
	gelb	grüngelb	orange	Rhamnetin

Auf Flavonaglykone untersuchte Drogen vom Großhandel.

Name	A g l y k o n e					
	Q	K	S	L	A	D
Hb. Galeopsidis			+			
Hb. Hyssopi				+		+
Flor. Lamii albi	+	+				
Flor. Lavandulae				+		
Hb. Marubii	+			+	+	
Fol. Melissae				(+)		
Fol. Menthae crispae				+	+	+
Fol. Menthae piperitae				+	+	+
Fol. Orthosiphonis	+	+				
Fol. Salviae				+		
Hb. Serpylli				+	+	
Hb. Thymi				+	+	

Erklärungen:

Q = Quercetin

K = Kämpferol

S = Scutellarein

L = Luteolin

A = Apigenin

D = Diosmetin

+ = Aglykon ist enthalten

Geprüfte Arten, welche keine Flavone enthalten:

Ajuga reptans L.

Nepeta Mussini Henk.

Coleus renaltianus

Origanum Majorana L.

Collinsonia Canadensis L.

Origanum vulgare L.

Hyptis pectinata

Salvia argentea L.

Leonurus Cardiaca L.

Sideritis auboea

L e b e n s l a u f

Am 8.8.1926 wurde ich, Roman S e m r a u , als Sohn des Kaufmanns Rudolf Semrau und seiner Ehefrau Maria, geb. Artmann, in Dillingen/Donau geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule in Memmingen trat ich 1937 in die dortige Oberschule für Knaben ein. 1944 wurde ich aus der 7.Klasse zur Luftwaffe eingezogen und noch bei den Erdkämpfen um Berlin eingesetzt.

Im Oktober 1945 begann ich nach Entlassung aus amerikanischer Kriegsgefangenschaft mein Praktikum in der Elefanten-Apotheke in Memmingen. Im Anschluß an die zweijährige Ausbildung besuchte ich den Förderkurs an der Universität München und legte dort 1947 meine Reifeprüfung ab. Bis April 1949, dem Beginn meines Studiums, assistierte ich noch in der Elefanten-Apotheke in Memmingen.

Sämtliche 6 Semester studierte ich an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München und bestand 1952 mein pharmazeutisches Staatsexamen mit der Note "sehr gut".

Von 1952 - 1954 arbeitete ich zuerst als Kandidat, dann als approbierter Apotheker in der Herzog-Albrecht-Apotheke, München. Seit dieser Zeit bin ich Pächter der Apotheke Bechhofen/Mittelfranken.

Unter der Anleitung von Herrn Professor Dr.L.HÖRHAMMER, Direktor des Instituts für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München, fertigte ich vorliegende Dissertation an.

